CAB INTERNATIONAL
MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY
26 FEB 1992
GUILLIERMOND, A
1930

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

FONDÉE PAR GASTON BONNIER

DIRIGÉE PAR

M. Marin MOLLIARD

MEMBRE DE L'INSTITUT
DOYEN HONORAIRE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

Extrait de la Revue générale de Botanique
T. 42, 1930

M. A. GUILLIERMOND

—

RECHERCHES ULTRAMICROSCOPIQUES SUR LES CELLULES VÉGÉTALES

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4 RUE DANTE 4

1930

EXTRAIT DE LA REVUE GÉNÉRALE DE BOTANIQUE
Tome XLII (1930)

RECHERCHES ULTRAMICROSCOPIQUES SUR LES CELLULES VÉGÉTALES

par A. GUILLIERMOND

I. — INTRODUCTION

A. — Historique.

Dès 1904, dans des recherches sur un *Paramœcium*, Greeley avait admis que le cytoplasme devait être considéré comme une solution colloïdale. Un peu plus tard, Höber (1906), Loeb (1906) et Mann (1906) concluent également à la nature colloïdale du cytoplasme. Mais c'est aux travaux classiques de A. Mayer et Schæffer (1908) que nous devons la connaissance de l'état colloïdal du cytoplasme. L'étude comparative des colloïdes organiques et des cellules vivantes à l'ultramicroscope (microscope à éclairage au fond noir) a permis à ces auteurs d'établir la constitution physique du cytoplasme dans les cellules animales. Ces savants ont constaté que le cytoplasme ne montre à l'ultramicroscope que quelques granulations éclairées qui ne présentent pas de mouvements browniens. Ces granulations ne sont pas de l'ordre micellaire, car elles sont toujours visibles à l'éclairage ordinaire. En dehors de ces granulations, le cytoplasme ne montre aucune micelle visible ; il apparaît, comme on dit, optiquement vide. Il se trouve dans un état particulier que A. Mayer et Schæffer ont désigné sous le nom d'hydrogel fluide (1) en le détournant

(1) Mayer et Schæffer entendent par gel les solutions colloïdales visqueuses dont les granules, liés au solvant et imbibés par lui, se trouvent dans

un peu de son sens originel. Par là, MAYER et SCHÆFFER entendent qu'il est constitué par des micelles très imbibées d'eau, ayant une forte liaison avec le milieu intermicellaire et ne présente que très peu de différence de réfringence avec celui-ci, ce qui fait qu'à l'éclairage au fond noir les micelles ne diffractent pas la lumière et n'apparaissent pas éclairées. MAYER et SCHÆFFER considèrent l'hydrogel cytoplasmique comme ayant une réaction légèrement alcaline, c'est-à-dire comme un hydrogel électronégatif. Comme tous les gels alcalins ou négatifs, il se trouble lorsqu'on y fait pénétrer des acides : on voit apparaître d'abord des traînées lumineuses (phase des nébuleuses non résolubles de MAYER et SCHÆFFER), puis celles-ci se résolvent en petites granulations d'abord ultramicroscopiques puis microscopiques et envahissent tout le cytoplasme qui devient tout entier lumineux en présentant des aspects de réseau (stade des nébuleuses résolubles). Les alcalis, au contraire, rendent le cytoplasme homogène. Les sels des métaux lourds, et d'une manière générale, toutes les substances employées comme fixateurs, agissent de la même manière que les acides en faisant apparaître, dans le cytoplasme, des granulations lumineuses assemblées en réseau. Il en est de même des déshydratants (alcool, chaleur).

FAURÉ-FRÉMIET (1908) a complété ces données par une étude comparative, au fond noir et à l'éclairage ordinaire, de divers Protozoaires (Infusoires et Amœbiens), entre autre de *Strobilidium gyrans*, ainsi que de diverses cellules sexuelles de Métazoaires. Il a constaté que le noyau offre une opalescence plus ou moins marquée, tandis que le cytoplasme est optiquement vide et ne montre que quelques granulations éclairées qui correspondent à des grains visibles en lumière ordinaire et repré-

un état intermédiaire entre l'état liquide et solide, et sont élastiques, propriété des solides. Le gel ne correspond donc pas, dans cette définition, au gel tel que l'a compris GRAHAM et qui représente l'état solide des colloïdes. Le gel, au sens de MAYER et SCHÆFFER, est fluide, et ces savants réservent, aux gels solides, le terme de *gelée*. Beaucoup de biologistes comme CHAMBERS ont désigné, sous le nom d'hydrosol, l'état qui correspond à l'hydrogel fluide de MAYER et SCHÆFFER, ce qui a établi une grande confusion. C'est pour cela que BOTTAZZI a proposé de remplacer l'hydrogel fluide de MAYER et SCHÆFFER par le terme de *gliode* qu'a accepté LAPICQUE.

sentent des produits du métabolisme. Quant aux mitochondries, elles ne réfléchissent pas la lumière et n'apparaissent que comme de petites taches nébuleuses à peine discernables sur le fond noir du cytoplasme.

Les recherches d'Aggazzotti (1910) sur les globules rouges de *Spelerpes fuscus* et celles de Marinesco (1912) sur les cellules nerveuses du Chien et du Chat confirment ces résultats qui sont actuellement classiques.

Ajoutons que les observations vitales faites sur les cellules de cultures de tissus par G. Lévi et les microdissections réalisées par Chambers ont permis à ces auteurs de confirmer également les résultats de A. Mayer et Schæffer sur l'état physique du cytoplasme.

Bottazzi (1911), dans un important travail sur la constitution colloïdale du cytoplasme, a proposé de remplacer le terme d'hydrogel fluide employé par A. Mayer et Schæffer par celui de *gliode* (glue) pour désigner l'état spécial du cytoplasme qui n'est en réalité ni un hydrogel, ni un hydrosol au sens de Graham.

Tout récemment, Macheboeuf (1928), par une série de fractionnements effectués en évitant toute action chimique brutale, a pu extraire, du sérum et du plasma de Chevaux, une solution constituée par un mélange de protéides, de lipides et de cholestérol, unis par des liaisons physiques ou chimiques assez puissantes pour modifier profondément les propriétés physiques ou chimiques des divers constituants. Cet auteur a montré que les solutions aqueuses de cette substance présentent l'aspect de gelée visqueuse, profondément limpide, coulant très lentement et possédant une certaine élasticité, qui répondent en tous points à la définition du gliode de Bottazzi.

On est moins renseigné pour ce qui concerne le cytoplasma des cellules végétales qui a été l'objet de travaux d'un certain nombre d'auteurs dont les résultats sont tout à fait contradictoires.

Gaidukov (1906-1910), à qui l'on doit les premières recherches sur ce sujet, a décrit, dans le cytoplasma des cellules végétales observées au fond noir, des granulations vivement éclairées et animées de mouvements browniens qui l'ont amené

à conclure que le cytoplasma se trouve à l'état d'hydrosol. Quant au noyau, il le décrit comme formé d'un granulum. Russo (1910-1911), qui a examiné un certain nombre de cellules végétales, arrive à la même conclusion. R. Price (1914), dans un travail sur les Spirogyres, certaines Mucoracées et quelques cellules de Phanérogames, montre que le cytoplasma observé au fond noir apparaît tantôt optiquement vide, tantôt rempli de granulations lumineuses, ce qui l'amène à penser qu'il peut passer de l'état de gel à celui de sol. Il décrit le chromatophore des Spirogyres comme optiquement vide et à l'état de gel. Le noyau lui-même serait optiquement vide.

L. Lapicque et ses élèves ont consacré de longues études à cette question qui les ont amenés à étendre, au cytoplasme des cellules végétales, les conclusions de A. Mayer et Schæffer, Fauré-Fremiet, Bottazzi, etc. Malheureusement, ces recherches dont nous avons été témoin, n'ont été qu'incomplètement publiées. L. Lapicque (1922) s'est borné à décrire ses observations sur les Spirogyres où il constate la présence, dans le cytoplasma optiquement vide, de nombreuses particules éclairées, de nature indéterminée, qu'il désigne sous le nom de *paillettes scintillantes* et qui sont animées d'un mouvement d'apparence brownienne, mais qui semble, en réalité, provenir d'une agitation, d'une sorte de brassage du cytoplasma. Ces granulations ont l'intérêt de démontrer la fluidité du cytoplasme. Lapicque précise ses conceptions dans ses leçons de la Sorbonne publiées par Cherbuliez (1926), puis par Mlle Kohler (1929). Il décrit la structure des cellules de *Fontinalis antipyretica* : à l'ultramicroscope, le cytoplasme de ces cellules est toujours optiquement vide et renferme des particules fortement éclairées qui, comme dans les Spirogyres, présentent des mouvements de brassage. Les chloroplastes sont optiquement vides et ne se distinguent que par leur contour lumineux. L'auteur suit, en outre, les processus de coagulation du cytoplasme dans les cellules de Spirogyres, de *Fontinalis antipyretica* et de l'épiderme d'*Allium Cepa*. Ceux-ci se traduisent d'abord par l'apparition, dans le cytoplasme optiquement vide, d'un nuage ; puis, le cytoplasme prend une structure alvéolaire et une forte luminosité qui lui donne un aspect neigeux. Parfois,

cette coagulation est précédée d'une phase de séparation de l'eau et du gel intimément fixés l'un à l'autre dans le cytoplasme vivant et qui se traduit par l'apparition de petits points brillants animés de mouvements browniens.

D'autre part, deux élèves de LAPICQUE ont abordé la question. Mlle LOURAU-DESSUS (1928) a étudié, à l'éclairage ordinaire et au fond noir, dans les cellules épidermiques des écailles d'*Allium Cepa* et dans les feuilles d'*Elodea canadensis*, les courants cytoplasmiques qui se traduisent par des déplacements des chloroplastes et d'autres granulations dont elle ne précise pas la signification. Elle est amenée à admettre que ces courants sont généralement provoqués par un traumatisme et commencent, dans l'*Elodea*, dans les cellules avoisinant l'endroit où l'on a détaché les feuilles. Un autre élève de LAPICQUE, HUILLERET (1928), a repris les expériences de BOKORNY et de LŒW qui avaient décrit, dans le cytoplasme des Spirogyres, la formation, sous l'influence de la caféine, de précipités nommés protéosomes. Il démontre, par l'observation au fond noir, que les protéosomes sont formés en grande partie dans la vacuole, comme l'avait prétendu PFEFFER, à la suite des travaux de BOKORNY et de LŒW, mais il n'en précise pas la nature chimique. En même temps, il constate que la caféine amène la production de précipités dans le cytoplasme qui prend alors les caractères d'un hydrosol. Ces phénomènes sont réversibles et lorsqu'on replace l'Algue dans des conditions normales, les précipités vacuolaires se dissolvent en même temps que le cytoplasme reprend son aspect normal de gel.

P. BECQUEREL (1923) a consacré une étude ultramicroscopique aux cellules épidermiques des écailles d'*Allium Cepa*. Il constate, comme L. LAPICQUE, que le cytoplasme est toujours optiquement vide et ne montre au fond noir que des granulations fortement éclairées qui se déplacent rapidement sous l'action des courants du cytoplasme et qui sont visibles au microscope ; il désigne ces granulations sous le nom de microsomes sans préciser leur nature et leur signification. L'auteur étudie, en même temps, la coagulation du cytoplasme : celui-ci prend d'abord un aspect nuageux, puis, bientôt apparaît formé par d'innombrables granulations lumineuses parmi lesquelles

il n'est plus possible de distinguer les microsomes. Un peu plus tard (1925), dans un court rapport, P. Becquerel relate qu'il est parvenu à distinguer au fond noir, à un très fort grossissement, mais dans certaines cellules seulement, des chondriocontes d'aspect muqueux que les courants cytoplasmiques déplacent lentement en les déformant.

Le travail plus récent de A. Pensa (1925) a porté sur les cellules les plus diverses (moisissures, cellules épidermiques de divers organes de Phanérogames, poils de feuilles, grains de pollen) et est accompagné de très belles figures. L'auteur a observé ces cellules comparativement à l'éclairage ordinaire et au fond noir. Il constate que les mitochondries apparaissent au microscope ordinaire comme des éléments très peu réfringents et très difficilement visibles, tandis que, à côté d'elles, se trouvent des granulations d'une réfringence très accusée qu'il désigne sous le nom de microsomes et qui sont beaucoup plus faciles à distinguer. Pensa, sans se préoccuper de distinguer les vacuoles et les granulations paraplasmiques du cytoplasme proprement dit, décrit, dans la plupart des cellules examinées par lui à l'ultramicroscope, un milieu de suspension présentant toujours une luminosité plus ou moins marquée dans laquelle se trouve une phase dispersée et solide, représentée par des microsomes plus fortement éclairés, et une phase dispersée et liquide, sombre, contenant quelques microsomes animés de mouvements browniens. Il admet que, dans la plupart des cas, le milieu de suspension est semi-fluide ou solide et présente le caractère d'un gel ; mais dans d'autres cas, il hésite à en faire un gel ou un sol. Quant à la phase liquide, il la regarde comme un hydrosol. Pensa constate, en outre, que les mitochondries ne sont pas visibles à l'éclairage au fond noir. Cependant il parvient à observer, dans les cellules épidermiques de certaines fleurs de Glaïeul, des plastes en forme de chondriocontes très épais qui se détachent en noir sur le cytoplasme lumineux.

Dans deux notes préliminaires (1919) et dans un mémoire tout récent, Leblond (1928) étudie la constitution physique du cytoplasme dans un certain nombre d'Algues et dans un *Achlya*, mais l'auteur se borne à des observations à l'éclairage ordi-

naire, sans utiliser l'ultramicroscope. Contrairement à l'opinion classique qui fait du cytoplasme une substance homogène et optiquement vide (hydrogel fluide ou gliode), LEBLOND admet que le cytoplasme doit être regardé le plus souvent comme un hydrosol. Il décrit, dans le cytoplasme, un grand nombre de granulations réfringentes, mobiles que, sans se préoccuper de définir, il englobe sous le terme de mitochondries et qu'il considère comme les micelles, extraordinairement grosses et visibles à l'éclairage ordinaire, de l'hydrosol cytoplasmique. Dans certains cas cependant, l'auteur admet que le cytoplasme se trouve à l'état d'hydrogel et il suppose qu'il pourrait passer, selon son activité fonctionnelle, de cet état à celui d'hydrogel et inversement. Dans les extrémités de filaments d'*Achlya* se transformant en zoosporanges, LEBLOND décrit le passage de l'état d'hydrogel à celui d'hydrosol. De même, en traitant par la caféine des cellules de Spirogyres, LEBLOND observe la même transformation de l'état d'hydrogel à l'état d'hydrosol, comme HUILLERET l'avait déjà signalé. Le cytoplasme revient ensuite à l'état d'hydrogel lorsqu'on replace les cellules dans des conditions normales.

MANGENOT (1929), reprenant les travaux de HUILLERET et de LEBLOND sur les Spirogyres, vérifie les observations de LAPICQUE et décrit un cytoplasme toujours optiquement vide renfermant les paillettes scintillantes de LAPICQUE, qu'il considère comme des cristaux. Il démontre que l'action de la caféine détermine simplement, comme l'avait décrit PFEFFER, la précipitation de substances colloïdales contenues dans les vacuoles (composés taniques) et n'intéresse pas le cytoplasme lui-même. Celui-ci reste toujours à l'état de gel tant que la cellules est vivante, seulement les précipités formés dans la vacuole peuvent s'accoler sur le bord du cytoplasme périvacuolaire et donnent l'illusion d'être formés dans celui-ci, phénomène souvent constaté dans les colorations vitales et dans les fixations. Lorsque les Algues traitées par la caféine ou un autre alcaloïde sont replacées dans les conditions normales, les précipités taniques se redissolvent dans la vacuole. MANGENOT démontre, en outre, que cette précipitation par la caféine et les autres alcaloïdes est due exclusivement aux composés taniques renfermés dans

la vacuole que l'on peut précipiter aussi par le bleu de Crésyl. Certaines Algues voisines des Spirogyres, telles que *Mougeotia* et *Zygnema*, ne renferment pas de tanins à l'état de solution. Chez elles, le tanin est normalement précipité sous forme de corpuscules animés de mouvements browniens dans les vacuoles. Ces Algues, traitées par la caféine, ne donnent lieu à aucune précipitation, ce qui prouve bien que la précipitation ne porte que sur les tanins. D'autre part, on obtient la même précipitation *in vitro* en traitant, par la caféine ou un autre alcaloïde, une solution de tanin dans un tube à essai.

On voit donc, par cet exposé, à quel point la question de l'état colloïdal du cytoplasme reste confuse pour les cellules végétales. C'est qu'en réalité, la plupart des auteurs n'ont pas abordé la question en cytologistes et se sont bornés à l'étude ultramicroscopique des cellules sans la contrôler par une étude au microscope ordinaire. Les cytologistes ont démontré, en effet, que la cellule a une organisation très complexe et, qu'en dehors du noyau, il existe, dans le cytoplasme, diverses catégories d'éléments figurés : les uns, de présence constante, les mitochondries et les vacuoles, et les autres, de présence transitoire seulement (granulations lipoïdes contenues dans le cytoplasme et divers produits du métabolisme renfermés dans les vacuoles). Pour une étude de ce genre, il est donc absolument nécessaire de tenir compte des données apportées par les cytologistes et l'on ne peut interpréter ce que l'on voit à l'éclairage au fond noir que si l'on possède une connaissance précise de la structure des cellules observées au microscope ordinaire et si l'on est suffisamment renseigné sur la nature chimique et la signification des divers éléments figurés de la cellule.

On ne s'est jamais préoccupé de rechercher avec précision, dans les cellules végétales, comment se comportent au fond noir les constituants morphologiques du cytoplasme que l'observation en lumière ordinaire, les colorants vitaux, et certaines techniques de fixation permettent de mettre en évidence. C'est pour ces raisons qu'il nous a paru intéressant d'entreprendre une étude d'ensemble sur cette question et celle-ci s'imposait d'autant plus que les cellules végétales sont infiniment plus favorables à l'observation vitale que les cellules animales et que

leur structure est beaucoup mieux connue. Cette étude complètera nos recherches antérieures sur les constituants morphologiques de la cellule végétale en donnant quelques renseignements sur leur état physique.

B. — Etat actuel de la connaissance de la structure du cytoplasme.

Il est nécessaire, avant d'exposer nos recherches, de rappeler succintement les résultats des travaux réalisés par les cytologistes depuis une quinzaine d'années et qui ont marqué un très grand progrès dans la connaissance de la structure de la cellule. Rappelons que certaines techniques dites *méthodes mitochondriales*, et en particulier la méthode de Regaud qui est de beaucoup la meilleure, ont démontré l'existence, dans toutes les cellules animales, de petits éléments de formes bactériennes (grains, bâtonnets, filaments ou chondriocontes) caractérisés par tout un ensemble de caractères histochimiques et constitués, comme le cytoplasme, par des lipo-protéides, mais dans lesquels les lipoïdes paraissent beaucoup plus abondants que dans le cytoplasme. Ces éléments nommés *mitochondries ou chondriosomes*, et dont l'ensemble, dans une cellule, constitue ce qu'on appelle le *chondriome*, sont des constituants permanents du cytoplasme et paraissent se multiplier par division, comme le noyau. Les observations vitales réalisées sur les Protozoaires, dans les cellules des cultures de tissus, ou au moyen de méthodes de microdissection, ont permis de contrôler l'existence des mitochondries. Il a été démontré que le cytoplasme présente toujours, dans les cellules vivantes, un aspect homogène et qu'il renferme constamment des mitochondries ; celles-ci sont visibles par suite de leur réfringence un peu plus accusée que le cytoplasme et revêtent les mêmes formes que dans les préparations obtenues par les méthodes mitochondriales ; on peut les colorer vitalement par le vert Janus. Le rôle des mitochondries est encore peu connu.

Les recherches que nous avons effectuées sur les cellules végétales ont démontré la présence également constante, dans le cytoplasme, de mitochondries semblables à celles des cellules

animales et qu'il est très facile d'observer sur le vivant. Elles ont établi, en outre, la présence simultanée, dans les cellules des Végétaux chlorophylliens, de deux catégories de mitochondries qui l'une et l'autre conservent leur individualité au cours du développement et se transmettent par division de cellules en cellules. L'une correspond aux mitochondries des cellules animales et des Champignons ; ce sont les *mitochondries proprement dites*, l'autre correspond aux organites depuis longtemps décrits sous les noms de *plastes* ou *leucites*, mais dont on ne connaissait pas les formes exactes parce que, jusqu'à l'introduction des méthodes mitochondriales, aucune méthode ne permettait de les fixer et de les colorer. Les éléments de cette deuxième catégorie offrent les mêmes formes et les mêmes caractères histochimiques que les mitochondries proprement dites, mais s'en distinguent par leur propriété de former, en leur sein, de la chlorophylle, de l'amidon et des pigments carotinoïdes. On ne peut les distinguer réellement des mitochondries proprement dites que lorsqu'ils renferment de la chlorophylle et qu'ils sont parvenus à l'état de gros chloroplastes. Cependant dans certains cas, d'ailleurs rares, les deux catégories de mitochondries offrent, à un même stade, des formes différentes, les unes étant à l'état de grains, les autres de chondriocontes, ce qui permet alors de les distinguer pendant tout le développement. L'étude des Algues vertes où la chlorophylle persiste à tous les stades du développement et où les plastes sont toujours à l'état de gros chloroplastes permet de s'assurer que les deux catégories d'éléments n'ont aucun lien génétique.

Ces deux catégories d'éléments, mitochondries et plastes, ont cependant les mêmes caractères histochimiques, répondent toutes les deux à la définition des mitochondries et présentent la même constitution lipoprotéide. On est obligé toutefois d'admettre qu'elles doivent avoir une différence dans leur constitution chimique, mais cette différence, très légère, échappe à l'analyse histochimique. Les deux catégories d'éléments sont parfaitement visibles sur le vivant et nos recherches ont pu démontrer, par l'observation comparative de la cellule vivante et de la cellule fixée, que les techniques mito-

chondriales les conservent aussi fidèlement que possible. Nos recherches ont établi, en outre, que, dans le cytoplasme toujours homogène, se trouvent presque toujours, en même temps que les mitochondries, mais en plus ou moins grande abondance, selon les cas, de petits corpuscules qui se distinguent des mitochondries par leur réfringence très accusée et par le fait qu'ils sont entraînés beaucoup plus rapidement par les courants cytoplasmiques. Ces corps qui sont toujours osmio-réducteurs et colorables par le Soudan correspondent aux microsomes des auteurs. Ils représentent des granulations lipoïdes et, parfois aussi, des essences.

Enfin, les recherches plus récentes de Dangeard et les nôtres ont montré, à l'aide de colorations vitales au moyen du rouge neutre et d'autres colorants, que toutes les cellules végétales renferment des vacuoles et que celles-ci contiennent toujours, dans leur suc vacuolaire, des substances colloïdales de nature variée qui ont une forte électivité pour les colorants vitaux. On a désigné l'ensemble des vacuoles d'une même cellule, sous le nom de *vacuome*. Selon l'état de développement des cellules, le vacuome peut se présenter sous des aspects très différents.

Dans les cellules embryonnaires, il est constitué par un grand nombre de petits éléments semi-fluides, en forme de grains ou de filaments anastomosés en réseau, constitués par une solution très condensée de colloïdes et qui se colorent uniformément et d'une manière intense par les colorants vitaux, entre autre par le rouge neutre. Ces éléments, par leurs formes et leur état semi-fluide, ressemblent aux mitochondries, mais s'en distinguent par leur affinité pour la plupart des colorants vitaux et par le fait que les méthodes mitochondriales ne les colorent pas. Leur état physique paraît être assez analogue à celui des mitochondries ce qui explique cette convergence de forme.

Ces éléments se gonflent par hydratation et se fusionnent pendant la différenciation cellulaire pour constituer de grosses vacuoles liquides qui finissent par confluer en une unique et énorme vacuole. A l'état liquide, ces vacuoles renferment toujours des colloïdes, mais ceux-ci sont à l'état de solution très diluée. Le rouge neutre détermine chez elles la précipitation

des colloïdes sous forme de corpuscules fortement colorés et animés de mouvements browniens et donne parfois une coloration diffuse du suc vacuolaire.

Les vacuoles paraissent naître *de novo* dans le cytoplasme, comme l'ont montré nos observations sur les Champignons. Le vacuome est un lieu d'accumulation d'un grand nombre de produits du métabolisme cellulaire. Nous avons émis l'opinion que les vacuoles dériveraient de l'élaboration, par le cytoplasme, de ces produits qui s'en sépareraient d'abord sous forme de colloïdes en solution très concentrée, non miscibles avec les colloïdes cytoplasmiques et qui, en vertu d'un pouvoir d'imbibition illimité, se transformeraient en vacuoles liquides. Nos recherches ont établi, en outre, que le vacuome correspond aux formations décrites, dans les cellules animales, sous le nom d'*appareil réticulaire de Golgi* et de *canalicules de Holmgren*, ce que les belles recherches de Parat et Painlevé, ainsi que celles d'un certain nombre d'autres auteurs, ont confirmé en montrant que ces formations se colorent vitalement par le rouge neutre et correspondent bien à un vacuome semblable à celui des cellules végétales. Le schéma de la figure 1 donne une idée de la constitution morphologique du cytoplasme.

Comme on le voit, il résulte des études des cytologistes que la cellule constitue un système colloïdal polyphasique dont le noyau, le chondriome, le vacuome, les granulations lipoïdes (microsomes) et le cytoplasme représentent autant de phases différentes. Il importe donc, comme l'a très justement fait remarquer Bottazzi, de distinguer ces différentes phases et de ne point confondre, dans les observations ultramicroscopiques, les granulations élaborées par le cytoplasme, c'est-à-dire les produits du métabolisme, qui n'appartiennent plus à la matière vivante, avec le cytoplasme lui même. C'est pour cela que certains physiologistes se sont préoccupés d'établir une terminologie nouvelle pour désigner les différents éléments de la cellule et distinguer ce qui appartient à la substance vivante de ce qui ne lui appartient pas.

Bottazzi réserve le terme de *protoplasme* ou *bioplasme* à toute la substance vivante de la cellule, y compris le noyau et le chondriome, et il donne le nom de *cytoplasme* à toute la subs-

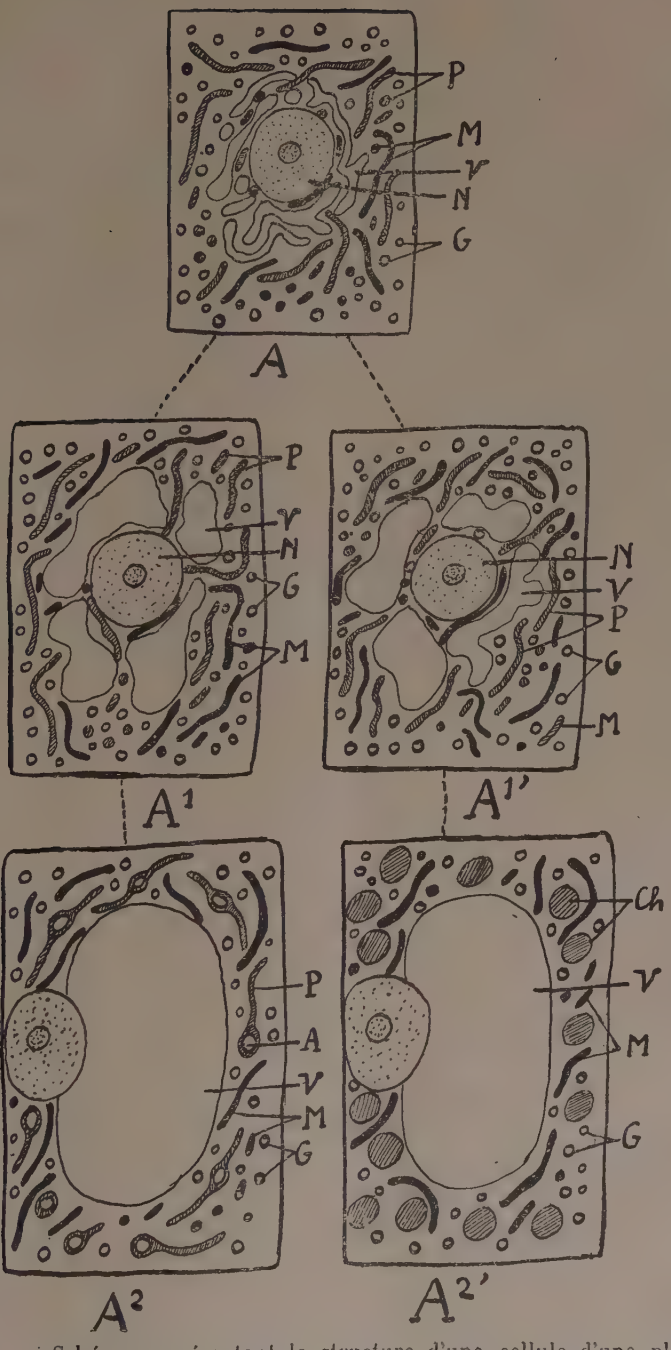


Fig. 1. — Schéma représentant la structure d'une cellule d'une plante chlorophyllienne, au cours de son développement. A, Cellule embryonnaire. N, Noyau. P, Plastes. M, Mitochondries. V, Vacuoles. G, Granulations lipoïdes. A^1, Cellule en voie de différenciation dans la racine. A^2, Cellule différenciée de la racine. P, Plastes en voie de former de l'amidon (A). $A^{1'}$, Cellule en voie de différenciation dans la tige ou la feuille. $A^{2'}$, Cellule différenciée de la tige ou de la feuille Ch, Chloroplastes.

tance, vivante ou non, qui se trouve en dehors du noyau. Le cytoplasme comprend donc la substance fondamentale homogène, le chondriome et les produits de l'élaboration du cytoplasme ; dans ces derniers se rangent tous les produits figurés du cytoplasme qui ne se composent pas de matière vivante. Ceux-ci sont divisés en produits permanents, comme la membrane, auxquels on réserve le nom de *métaplasme*, et ceux qui n'ont qu'un caractère transitoire (amidon, graisses) qui représentent le *paraplasme*.

Pour Lapicque, au contraire, le cytoplasme est tout l'ensemble de la cellule, y compris le noyau, et le protoplasme représente seulement la partie fondamentale vivante qui se trouve en dehors du noyau. Ce savant distingue en outre : 1° le *deutoplasme*, correspondant aux parties du cytoplasme différenciées en vue d'un travail spécial et comprenant les mitochondries, les plastes et les vacuoles, 2° le *métaplasme* et 3° le *paraplasme*, ces derniers compris dans le sens de Bottazzi.

Ces classifications sont en contradiction avec celles acceptées par les cytologistes. Elles ont, en outre, le défaut de ne pas toujours correspondre avec les faits reconnus par les cytologistes. Le terme de deutoplasme, créé par Van Beneden pour le vitellus des œufs, est employé généralement comme synonyme de paraplasme. Il est donc détourné de son sens originel par Lapicque. En outre, les mitochondries et les plastes ne peuvent pas être rangés avec les vacuoles, car les premiers appartiennent à la matière vivante, alors que les vacuoles semblent devoir être classées dans le paraplasme. C'est pourquoi nous proposons la classification suivante qui nous paraît plus claire. Avec Strasburger et Henneguy, nous donnerons le nom de *protoplasme* à la matière vivante, c'est-à-dire au noyau et à tout ce qui est vivant en dehors du noyau et nous distinguerons, avec ces mêmes auteurs, le *nucléoplasme* ou *caryoplasme*, c'est-à-dire le noyau, le *cytoplasme* comprenant la matière fondamentale vivante, homogène, et le *chondriome* avec les mitochondries proprement dites et les plastes. Nous grouperons, dans le *paraplasme* et le *métaplasme*, les produits d'élaboration du cytoplasme ou du chondriome ; ces deux termes seront pris dans le sens de Bottazzi ; mais nous incorporerons, dans le paraplasme, le vacuome.

Enfin, nous grouperons toutes ces formations qui constituent la cellule sous le nom de *contenu cellulaire*, comprenant la matière vivante et les produits de son élaboration.

Contenu cellulaire :
- *Protoplasme ou matière vivante* : nucléoplasme, cytoplasme, chondriome.
- *Métaplasme* : membrane
- *Paraplasme* : vacuoles, globules lipoïdes, grains d'amidon, etc.

C. — Technique.

Nos recherches ont toujours consisté en une étude minutieuse de la cellule vivante observée comparativement dans des conditions favorables, au microscope ordinaire et au microscope à éclairage au fond noir. Pour les observations microscopiques à l'éclairage direct, nous nous sommes servi de l'objectif apochromatique 1/15 de Zeiss et de l'oculaire compensateur 6. Les observations à l'éclairage au fond noir ont été réalisées avec une lampe à arc de tungstène de Stiassnie et à l'aide du condensateur cardioïde de Zeiss, avec l'objectif à immersion de Leitz 1/12 muni du diaphragme pour fond noir et les oculaires compensateurs 6 et 12, de Zeiss. Il nous a paru qu'il était souvent préférable de remplacer l'immersion par un objectif à sec : nous avons employé pour cela l'objectif D de Zeiss. L'immersion rend mieux compte de certains détails cellulaires, mais les observations avec l'objectif à sec permettent d'obtenir des images d'ensemble beaucoup plus intéressantes et plus saisissantes, notamment lorsqu'on veut provoquer la coagulation du cytoplasme. Enfin, comme le condensateur cardioïde de Zeiss ne permet pas d'obtenir alternativement l'éclairage ordinaire et l'éclairage au fond noir, nous avons utilisé aussi parfois l'appareil au fond noir de Reichert qui réalise ces conditions.

Nous avons toujours choisi, comme matériel d'étude, les cellules qui nous avaient déjà servi dans nos recherches antérieures, pour nos observations vitales, et dont nous connaissions très bien la structure. Mais, dès nos premiers essais, nous nous

sommes rendu compte de la difficulté des observations au fond noir. En effet, il est très malaisé de préserver de toute altération et de conserver longtemps vivantes des cellules épidermiques placées dans un milieu artificiel, même isotonique. Il est difficile d'éviter les altérations provenant de la dessiccation produite pendant le détachement, si vite soit-il fait. Les parties lésées au cours du sectionnement sont, en outre, le siège d'altérations qui se propagent très vite dans les cellules saines. Enfin, le milieu isotonique ne suffit pas pour maintenir les cellules intactes. Le manque d'aération et la pression exercée par la lamelle peuvent également intervenir. Pour obvier à ces inconvénients, nous avions utilisé de préférence, dans nos études vitales antérieures, les bractées membraneuses qui recouvrent les jeunes fleurs d'Iris et qui, grâce à leur extrême minceur, peuvent être observées sans aucune manipulation ; celles-ci sont préservées longtemps des altérations dues au milieu dans lequel on les examine, grâce à la cuticule imperméable qui recouvre leurs cellules épidermiques. Nous avions utilisé également les feuilles d'*Elodea canadensis*, plante aquatique dont les feuilles très minces peuvent être examinées sans manipulation et dans leur milieu naturel, l'eau. Enfin, pour d'autres épidermes, nous avions réussi à éviter les altérations trop rapides en détachant les fragments d'épiderme avec une assise sous-épidermique : de cette manière, les cellules épidermiques protégées d'une part par leur cuticule, d'autre part par la couche cellulaire sous-épidermique, se conservent plus longtemps.

Mais les observations ultramicroscopiques exigeant des préparations aussi minces que possible ne permettent guère d'employer ce matériel ou de recourir à ce procédé. Aussi avons-nous commencé par l'étude des Champignons, en particulier des Levures, qui ne risquent pas de s'altérer dans l'eau et qui d'ailleurs peuvent être observées dans leur milieu de culture et permettent de réaliser des préparations très minces. Nous avons utilisé aussi les Saprolégniacées que l'on peut aussi observer dans leur milieu de culture et qui sont, comme nous l'avons montré antérieurement, des objets les plus précieux pour les observations vitales. Nous avons aussi observé diverses Algues

d'eau douce. Ce n'est qu'après avoir commencé par ce matériel que nous avons abordé l'étude plus délicate des Végétaux supérieurs.

Les cellules épidermiques des pétales de Tulipe, qui constituent l'un des matériels les plus favorables pour l'étude vitale des mitochondries et des plastes, sont malheureusement extrêmement délicates et ne nous ont donné que des résultats médiocres. Aussi, par tâtonnement, avons-nous trouvé des cellules plus résistantes et, en particulier, les cellules épidermiques des feuilles de Tulipe. Les cellules de l'épiderme des feuilles d'*Iris germanica* et surtout celles des écailles des bulbes d'*Allium Cepa* nous ont fourni aussi un matériel de choix. Avec certaines précautions, nous avons pu les conserver assez longtemps à l'état de vie. Pour cela, nous avons essayé le sérum physiologique et le liquide de Ringer préconisés par Lapicque et ses élèves, bien que ces milieux soient hypotoniques pour les cellules végétales. Le sérum physiologique ne nous a donné que de très mauvais résultats ; il s'est montré bien inférieur au milieu isotonique que nous avions utilisé dans nos recherches antérieures, c'est-à-dire une solution de saccharose à 7,5 p. 100, milieu qui a donné également de bons résultats à Martens dans ses récentes observations vitales sur le noyau des cellules végétales. Par contre, le liquide de Ringer (1) lui est incontestablement supérieur et nous a permis de conserver à l'état de vie, pendant une durée très longue, les fragments de divers épidermes. Les courants cytoplasmiques nous ont toujours servi de critérium de la vie des cellules. Certains auteurs, et entre autres Mlle Lourau-Dessus, ont soutenu que les courants apparaissent surtout dans des conditions anormales, traumatisme ou éclairage trop puissant. Cette opinion est certainement exagérée, car nous avons pu constater des courants très rapides dans un *Saprolegnia* cultivé en chambre humide et observé à

(1) Liquide de Ringer :

Chlorure de sodium	6 gr.
Bicarbonate de soude	0 gr. 10
Chlorure de calcium	0 gr. 10
Chlorure de potassium	0 gr. 075
Eau distillée	1.000 gr.

la lumière naturelle ; toutefois il est certain que les conditions anormales accélèrent ces courants et permettent de les faire apparaître là où ils n'existent pas. Cependant ces courants ne s'observent que dans les cellules vivantes et, dès que la cellule s'altère, ils font place à des mouvements browniens. On peut donc avoir la certitude qu'une cellule présentant des courants cytoplasmiques est une cellule vivante.

II. — OBSERVATION DE QUELQUES CELLULES

A. — Levures.

Parmi les Levures, le *Saccharomycodes Ludwigii* se montre très favorable aux observations au fond noir, en raison des dimensions relativement élevées de ses cellules.

Observée à l'éclairage direct, cette Levure montre le plus souvent une seule grosse vacuole, plus rarement plusieurs (figure 1). La vacuole (*v*) est très facile à distinguer, par son contenu hyalin, du cytoplasme beaucoup plus réfringent. Généralement, elle ne montre aucun contenu visible. Cependant, dans certaines cellules, on y voit un ou plusieurs corpuscules réfringents agités de mouvements browniens (fig. 2, 5 8 et 11, C*m*). Elle renferme cependant, à l'état de solution colloïdale, une substance dont les caractères histochimiques sont bien définis, mais dont la nature chimique n'est pas encore connue, et que nous avons désignée sous le nom de métachromatine. Lorsqu'on colore vitalement, par le rouge neutre, les cellules de cette Levure, on voit immédiatement apparaître, dans les vacuoles qui ne renfermaient aucun contenu visible, de nombreux corpuscules fortement colorés et animés de mouvements browniens qui résultent de la précipitation, sous l'influence du colorant, de la métachromatine renfermée en solution dans la vacuole. Les quelques corpuscules qui préexistent dans certaines vacuoles ne sont autre chose que le résultat d'une précipitation partielle de cette métachromatine produite dans des conditions normales. La métachromatine est également précipitée et insolubilisée par l'alcool et le formol et, après

fixation par l'une ou l'autre de ces substances et coloration par le bleu de Crésyl, on observe, dans toutes les vacuoles, de nombreux corpuscules colorés métachromatiquement en rouge par le bleu de Crésyl, et qui donnent les mêmes images que celles que l'on obtient par coloration vitale au rouge neutre.

Le cytoplasme présente toujours un aspect absolument homogène et l'on n'y distingue que des granulations lipoïdes osmioréductrices et colorables par le Soudan. Ces granulations,

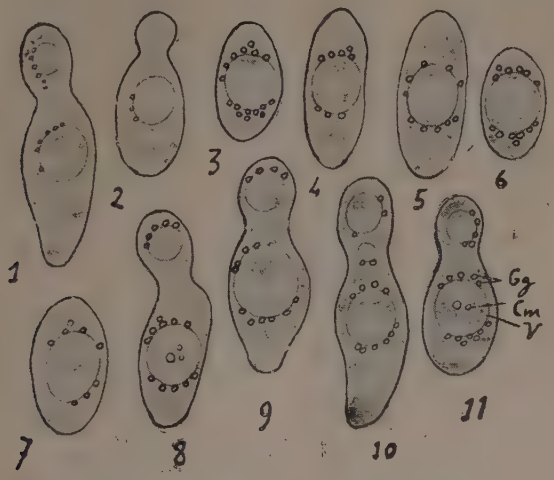


Fig. 2. — Cellules de *Saccharomycodes Ludwigii* observées sur le vivant : on y voit très distinctement les vacuoles entourées de granulations lipoïdes très réfringentes. Dans les vacuoles de quelques cellules se trouvent des corpuscules réfringents animés de mouvements browniens (Grossissement : environ 1.000).

faciles à distinguer par leur forte réfringence, sont toujours immobiles et exclusivement localisées autour des vacuoles (fig. 1, G*g*). Elles sont petites et rares dans les cellules provenant d'une culture de 12 heures ; elles deviennent, au contraire beaucoup plus grosses et nombreuses au bout de 24 à 48 heures et forment, autour de la vacuole, une couronne compacte. Le noyau ne s'aperçoit que dans quelques cellules sous forme d'une vésicule légèrement moins hyaline que la vacuole et renfermant, à son intérieur, un nucléole faiblement réfringent. Le chondriome ne se voit généralement pas, mais une colora-

tion vitale au vert Janus ou au violet de Dahlia permet parfois de le mettre en évidence. On l'obtient plus facilement par les techniques mitochondriales : il est constitué surtout par de longs chondriocontes. Ce n'est que dans des cellules très rares que l'on peut distinguer, sur le vivant et sans coloration vitale, quelques chondriocontes peu réfringents.

Examinées au fond noir, les cellules de cette Levure montrent toujours un cytoplasme optiquement vide. Les vacuoles sont également optiquement vides et se confondent avec le cytoplasme. Ce n'est que très rarement qu'elles ont un contour lumineux qui les rend visibles (Pl. 8, fig. 14 et 15). Il n'y a de lumineux que les granulations lipoïdes qui, par leur localisation autour des vacuoles, permettent de reconnaître l'emplacement de celles-ci. Lorsque les vacuoles renferment de la métachromatine à l'état de corpuscules, ceux-ci apparaissent plus lumineux encore que les granulations lipoïdes du cytoplasme et on les voit s'agiter de mouvements browniens, dans la vacuole, d'une manière beaucoup plus nette qu'à l'éclairage ordinaire (Pl. 8, fig. 4, 5, 9 et 12). Le noyau et le chondriome ne sont jamais visibles au fond noir. Lorsqu'on observe, au fond noir, une préparation colorée vitalement par le rouge neutre, on constate que le cytoplasme reste optiquement vide ; par contre, on voit, dans la vacuole, de nombreux corpuscules de couleur rouge animés de mouvements browniens.

On rencontre toujours, dans les préparations, des cellules mortes (Pl. 8, fig. 17 à 19) : celles-ci se distinguent très facilement des cellules vivantes par leur aspect uniformément lumineux et confusément granuleux (aspect de neige). Cet aspect est tout à fait semblable à celui des cellules fixées examinées au fond noir. D'ailleurs, en introduisant, dans la préparation, une goutte d'alcool ou d'une solution d'acide acétique, on obtient aussitôt ce même aspect pour toutes les cellules. Si la solution d'acide acétique est très diluée, cet aspect est précédé d'une phase dans laquelle le cytoplasme devient laiteux. L'addition d'alcalis, au contraire, ne modifie pas l'homogénéité du cytoplasme. Dans certaines cellules en voie de mourir, nous avons observé parfois, dans le cytoplasme, de nombreuses et très petites granulations ultramicroscopiques, à peine discernables,

animées de mouvements browniens, qui paraissaient indiquer la transformation de l'hydrogel en hydrosol.

On obtient les mêmes résultats avec les *Saccharomyces ellipsoideus* et *Pastorianus* dont les cellules, moins larges mais plus allongées, offrent presque toujours deux grosses vacuoles séparées par une région cytoplasmique médiane renfermant le noyau. La structure de ces Levures est exactement la même que celle du *S. Ludwigii* et, au fond noir, leurs cellules montrent un cytoplasme optiquement vide dans lequel il n'y a de lumineux que des granulations lipoïdes formant, autour de chacune des vacuoles, une sorte de couronne (Pl. 8, fig. 20 à 24).

B. — Oidium lactis.

Parmi les Champignons filamenteux, nous avons étudié l'*Oidium lactis*, un Champignon voisin du *Dematium pullulans* et un *Saprolegnia*.

En lumière directe, l'*Oidium lactis* présente, dans les extrémités de ses filaments en voie de croissance, un cytoplasme très dense dans lequel on aperçoit généralement, d'une manière plus ou moins confuse, de nombreux chondriocontes allongés et peu réfringents ainsi qu'un certain nombre de granulations lipoïdes très réfringentes, de préférence localisées au voisinage des vacuoles. Les vacuoles toutes petites sont à peine visibles. Dans les parties un peu plus âgées, on aperçoit de nombreuses petites vacuoles plus distinctes, qui, peu à peu, au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'extrémité du filament, se gonflent et se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles autour desquelles sont localisées les granulations lipoïdes. Dans les filaments plus âgés, ces vacuoles deviennent énormes, occupant presque tout le filament et refoulant, à la périphérie, le cytoplasme et les noyaux. Les noyaux qui sont toujours au nombre de plusieurs par article et qui, généralement, ne sont pas visibles sur le vivant, s'aperçoivent dans ces articles parce que, plus larges que le cytoplasme pariétal, ils font hernie dans la vacuole. Dans certains articles renfermant de grosses vacuoles, on peut apercevoir, en faisant varier le point, les chondrio-

contes très allongés situés dans la couche cytoplasmique pariétale. Les vacuoles ne montrent généralement aucun contenu visible ; certaines cependant renferment quelques corpuscules métachromatiques animés de mouvements browniens. En tous cas, une coloration vitale au rouge neutre permet de précipiter, sous forme de nombreux corpuscules animés de mouvements browniens, la métachromatine contenue en solution dans les vacuoles. Dans les extrémités des filaments, les vacuoles apparaissent tantôt comme de très petits grains que le rouge neutre colore d'une manière assez intense et uniforme, tantôt, à l'état de petites vacuoles dans lesquelles la métachromatine se précipite sous forme d'un petit corpuscule animé de mouvements browniens. Quant aux grosses vacuoles résultant de la confluence de celles-ci, elles montrent, dans les colorations vitales au rouge neutre, de nombreux corpuscules colorés. Comme dans les Levures, la métachromatine est insolubilisée et précipitée par l'alcool et le formol sous forme de corpuscules que l'on peut colorer ensuite par le bleu de Crésyl. Ajoutons qu'une coloration vitale au vert Janus permet de colorer les chondriocontes et qu'on peut obtenir, par un mélange de vert Janus et de rouge neutre, la double coloration vitale du chondriome et du vacuome.

Au fond noir, tous les filaments apparaissent le plus souvent optiquement vides et l'on ne voit de lumineux que les granulations lipoïdes situées au voisinage des vacuoles (Pl. 9, *g*). Ces dernières sont également optiquement vides et ne montrent que, dans quelques cas rares, des corpuscules très lumineux et animés de mouvements browniens (Pl. 9, fig. 8). Assez fréquemment cependant, les vacuoles sont visibles, grâce à un contour lumineux (Pl. 9, fig. 5 à 9 *v*). Presque toujours en ce cas, les parois éclairées montrent des mouvements d'ondulation qui paraissent provenir d'une agitation du cytoplasme ou d'échanges qui se produisent entre le cytoplasme et la vacuole. Dans quelques cas très rares, les noyaux se distinguent, dans les articles pourvus de grosses vacuoles, comme des hernies du cytoplasme entourées d'un cercle très faiblement lumineux. (Pl. 9, fig. 3, N). Quant au chondriome, il se laisse deviner parfois, dans les extrémités des filaments, sous forme de granula-

tions confuses et très faiblement lumineuses dont il n'est pas possible d'analyser les formes.

Le Champignon voisin du *Dematium* que nous avons observé offre un mycélium, qui donne naissance, par bourgeonnement, à de nombreuses formes levures, et qui, en vieillissant, prend une couleur noire. Les filaments du mycélium renferment de grosses vacuoles qui parfois montrent un assez grand nombre de corpuscules métachromatiques animés de mouvements browniens. Dans beaucoup de cas, ces vacuoles apparaissent très nettement au fond noir entourées par un cercle lumineux et montrant, dans leur intérieur, un grand nombre de corpuscules fortement éclairés et animés de mouvements browniens. Quant aux levures, elles ne renferment, au début de leur formation, aucune granulation lipoïde et le fond noir les fait apparaître tout entières optiquement vides. Un peu plus tard, elles présentent de nombreuses granulations lumineuses animées de mouvements browniens qui pourraient faire penser à un sol. Mais une observation attentive de ces levures, en lumière ordinaire, nous a montré que le cytoplasme est en réalité rempli de petites vacuoles contenant chacune un corpuscule métachromatique animé de mouvements browniens et que l'on peut colorer vitalement par le rouge neutre. Cela nous montre combien les observations au fond noir sont délicates et demandent, pour être interprétées, une connaissance exacte de la structure de la cellule en lumière ordinaire.

C. — Saprolegnia.

Les *Saprolegnia* offrent un intérêt spécial, car on sait que ces Champignons montrent, avec une très grande netteté, sur le vivant, tous les détails de leur structure et constituent un des matériels les plus favorables pour les observations vitales. Le Champignon que nous avons observé est une espèce de *Saprolegnia* isolée d'un Poisson, en 1924, par un de nos élèves, M. Chaze, et qui depuis a été conservée au laboratoire en culture pure. Sur peptone à 1 p. 100, à 25°, il donne un développement rapide. Le mycélium obtenu dans ces conditions est très favorable pour les observations vitales. On y voit, avec

une grande netteté, les noyaux qui apparaissent sous forme de vésicules hyalines arrondies ou souvent fusiformes, renfermant, dans leur intérieur, un gros nucléole faiblement réfringent, et le chondriome formé presque exclusivement de longs chondriocontes onduleux, orientés dans le sens de la longueur des filaments. Ceux-ci, bien que d'une réfringence faible, sont très distincts et l'on peut suivre leurs déplacements très lents, accompagnés de modifications incessantes de leurs formes, sous l'action des courants cytoplasmiques. Enfin, en dehors de ces éléments, dans le cytoplasme toujours transparent et homogène, on trouve un plus ou moins grand nombre de petites granulations d'une réfringence très accusée et qui sont entraînées rapidement par les courants cytoplasmiques. Ces granulations présentent les caractères des lipoïdes.

D'autre part, il est très facile de mettre en évidence le vacuome, au moyen d'une coloration vitale au rouge neutre : celui-ci apparaît, dans les extrémités des filaments en voie de croissance, sous forme de fins canalicules anastomosés en réseau, qui se colorent uniformément et d'une manière assez intense par le rouge neutre. Les canalicules, en se gonflant et se fusionnant les uns avec les autres, arrivent à constituer, dans les parties un peu plus âgées des filaments, un unique canal vacuolaire parcourant toute la longueur du filament et dans lequel le rouge neutre colore intensément des granulations animées de mouvements browniens, de diverses dimensions, en même temps qu'il produit souvent une coloration diffuse du suc vacuolaire. Les granulations des vacuoles sont dues en partie à des corpuscules préexistant dans le canal, en partie à la précipitation, sous l'influence du colorant, de substances colloïdales contenues en solutions dans le suc vacuolaire. Mais ici la substance colloïdale contenue dans le vacuome n'offre pas les caractères histochimiques de la métachromatine. Le vacuome renferme une substance colloïdale précipitable par le rouge neutre qui n'est pas insolubilisée par l'alcool et le formol, qu'il n'est pas possible de conserver et de colorer après fixation et dont on ignore la nature chimique, et des corpuscules préformés qui réduisent très légèrement l'acide osmique et paraissent être des lipoïdes.

L'examen au fond noir est infiniment moins favorable que l'observation en lumière ordinaire. Dans la majorité des filaments, on ne voit que les granulations lipoïdes (Pl. 10, fig. 1, 2 et 3 *g*). Celles-ci sont très lumineuses, bien plus visibles encore

Fig. 2 *bis*. — A, Extrémité de filaments de *Saprolegnia* en voie de se transformer en zoosporange (Grossissement : environ 1.200), observé au fond noir. G, Granulations lipoïdes. B, Zoospore.

qu'à l'éclairage direct ordinaire et on peut suivre admirablement leurs déplacements. En même temps, on trouve fréquemment, dans le vacuome optiquement vide, et que l'on ne distingue pas du cytoplasme, des granulations animées de mouvements browniens et un peu moins réfringentes que les granulations lipoïdes. Dans quelques cas très rares, on observe les vacuoles

alors qu'elles sont encore à l'état de canalicules en voie de se fusionner : elles apparaissent alors avec un contour lumineux qui, fréquemment, offre d'incessants mouvements d'ondulation qui paraissent dus à une agitation du cytoplasme. Les noyaux ne s'aperçoivent que très rarement sous forme de petites masses optiquement vides, mais à contour faiblement lumineux (Pl. 10, fig. 2, N). Quant aux chondriocontes, ils sont très rarement visibles. On les voit surtout aux extrémités des filaments, là où ils sont très nombreux, sous forme de granulations très faiblement lumineuses, confuses, et dont il est impossible d'analyser les formes. Dans certains filaments plus âgés et très larges, on peut cependant les distinguer sous forme de boyaux optiquement vides à contour seulement faiblement lumineux (Pl. 10, fig. 4 et 5). Il est facile de déterminer, dans le *Saprolegnia*, la transformation du cytoplasme optiquement vide en un coagulum uniformément granuleux et lumineux, par addition d'une solution d'acide acétique ou par simple pression exercée sur la lamelle (Pl. 10, fig. 6).

Dans les filaments en voie de se transformer en zoosporanges, le cytoplasme se remplit d'un nombre considérable de granulations lipoïdes (fig. 2 *bis*, A). Les zoospores, elles-mêmes, renferment de nombreuses granulations lipoïdes (fig. 2, B).

D. — Cellules épidermiques de Tulipe.

Les cellules épidermiques de beaucoup de Monocotylédones, sont, comme nous l'avons montré antérieurement, très favorables à l'observation vitale des mitochondries et des plastes. Parmi elles, les cellules de l'épiderme de Tulipe et celles des diverses pièces florales, des bractées et des feuilles d'Iris, constituent un matériel de choix qui nous a permis de réaliser des observations vitales les plus précises qui aient pu être faites jusqu'ici.

Les cellules épidermiques des pétales de Tulipe sont malheureusement très délicates et il est difficile de les conserver en solution isotonique ou dans le liquide de Ringer ; elles manifestent très rapidement des altérations (vésiculisation de leurs plastes et de leurs mitochondries) et des modifications de leur

noyau. Dans nos observations antérieures, pour éviter ces altérations, nous avions toujours soin de détacher l'épiderme en conservant une assise de cellules du mésophylle. De cette manière, les cellules épidermiques pouvaient être conservées assez longtemps sans aucune altération. Malheureusement, ce procédé n'est pas applicable pour les observations au fond noir.

Nous avons donc recherché d'autres matériaux plus favorables avant d'aborder l'étude des cellules épidermiques des pétales de Tulipe qui, d'ailleurs, ne nous ont fourni que de médiocres résultats. Nous avons constaté, au contraire, que les cellules épidermiques des feuilles de Tulipe, où les mitochondries et les plastes sont faciles à observer à l'éclairage direct, quoique moins distincts que dans l'épiderme des pétales, peuvent être conservés pendant longtemps sans altération dans le liquide de Ringer : ces cellules présentent toujours, en outre, des mouvements du cytoplasme qui garantissent leur vitalité. Nous les avons donc choisies comme objet d'étude.

Ces cellules, comme toutes les cellules adultes, offrent une énorme vacuole occupant la plus grande partie de leur volume. Le cytoplasme est réduit à une mince couche pariétale ; il renferme le noyau situé sur le côté et entouré d'une zone de cytoplasme d'où partent un certain nombre de trabécules cytoplasmiques traversant la vacuole. Le cytoplasme est transparent et homogène et ne se distingue que difficilement de la vacuole : mais on peut mettre en évidence cette dernière par une coloration vitale au rouge neutre qui donne à la vacuole une teinte rouge diffuse et détermine, dans celle-ci, la formation d'un certain nombre de précipités fortement colorés et animés de mouvements browniens. Le noyau présente toujours un aspect plus réfringent que le cytoplasme et une structure finement granuleuse assez accentuée ; le nucléole englobé dans la substance granuleuse du noyau n'est pas toujours visible. Cette structure apparaît dans les cellules qui ne présentent pas le moindre signe d'altération ; elle n'est certainement pas due à une altération, car nous l'avons retrouvée dans les parties marginales minces de feuilles que nous examinions directement au microscope sans les détacher de la plante. Cette structure

s'accentue et fait place à une structure réticulée dans les cellules qui commencent à s'altérer.

Le cytoplasme montre de petits leucoplastes, mais pas très

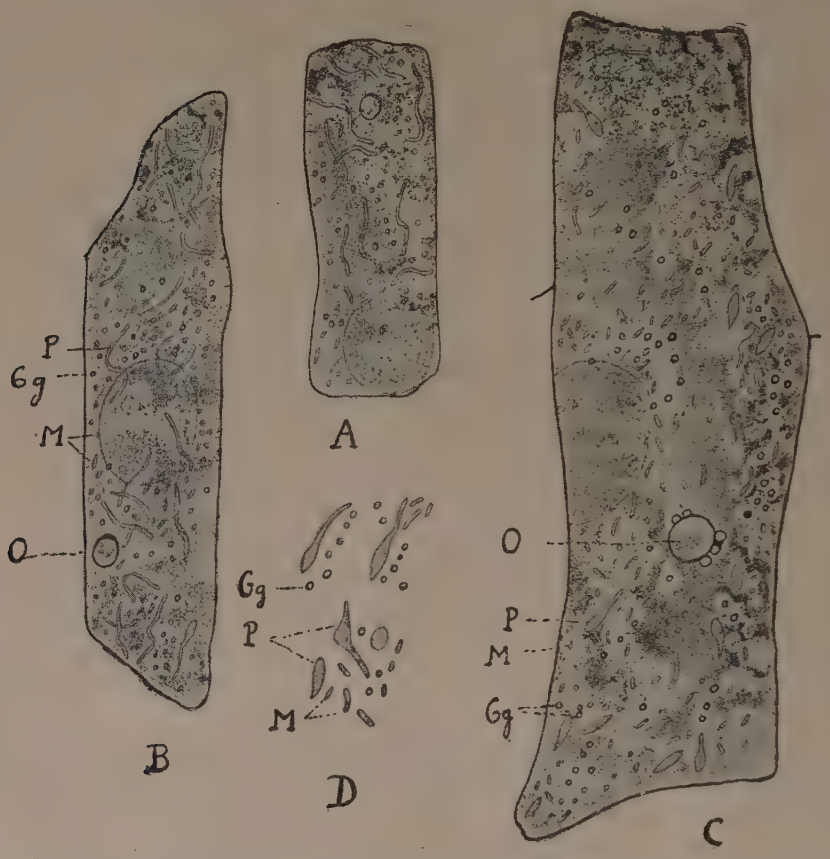


Fig. 3. — Cellules épidermiques de feuilles de Tulipe observées sur le vivant. A et B, Cellules jeunes. O, Oléoplaste. Gg,Granulations lipoïdes. M, Mitochondries. P, Leucoplastes. C, Cellule d'une feuille plus âgée. (Grossissement : environ 1.000). D, Fragment de cytoplasme d'une cellule âgée, à un fort grossissement : environ 2.000.

nombreux et d'une faible réfringence, qui offrent la forme de fuseaux à pointes parfois très effilées (fig. 3, B, C, D), et qui dérivent de chondriocontes bien visibles dans les cellules jeunes (fig. 3, A). A côté de ces éléments, on trouve un grand nombre de mitochondries ayant exactement la même réfringence

que les leucoplastes et qui se présentent sous forme de grains, de bâtonnets et parfois de véritables chondriocontes (fig. 3, M). Tous ces éléments, leucoplastes et mitochondries, ne sont que très lentement entraînés par les courants cytoplasmiques, mais, en dehors d'eux, on observe un assez grand nombre de petites granulations sphériques et de dimensions variées qui s'en distinguent par leur réfringence très accusée et leurs déplacements rapides sous l'action des courants du cytoplasma (fig. 3, G*g*). Ces éléments qui, en raison de leur forte réfringence, sont les éléments les plus visibles du cytoplasme, correspondent aux microsomes des auteurs. Ils se colorent par le Soudan et brunissent par l'acide osmique ; ils représentent donc des granulations lipoïdes.

Ajoutons enfin que chaque cellule renferme, dans son cytoplasme, un corpuscule volumineux, très réfringent, formé souvent d'un seul ou d'un petit nombre de globules lipoïdes d'inégales dimensions, qui correspond à ce qu'on désigne improprement sous le nom d'oléoplaste (fig. 3, O). Ces corpuscules ne sont, en effet, entourés d'aucune membrane protéique et ne naissent pas dans des plastes. Ils montrent à peu près les mêmes réactions que de petites granulations lipoïdes du cytoplasme et on peut les considérer comme des lipoïdes et des essences.

Observées au fond noir, ces cellules montrent un noyau d'une opalescence assez marquée dans lequel on n'aperçoit généralement pas le nucléole ; celui-ci cependant apparaît dans certains noyaux comme une sphère optiquement vide (Pl. 11, fig. 2). Le cytoplasme est optiquement vide et se confond avec la vacuole également optiquement vide ou ne montrant qu'exceptionnellement quelques granulations lumineuses et animées de mouvements browniens. Il n'y a d'éclairés, dans le cytoplasme, que l'oléoplaste et les granulations lipoïdes (microsomes) (Pl. 10, fig. 7 et Pl. 11). Ces dernières (G) sont encore plus distinctes à l'ultramicroscope qu'à l'éclairage ordinaire, parce qu'elles apparaissent sur fond absolument noir, et l'on peut suivre, avec une admirable netteté, leurs déplacements dans les trabécules cytoplasmiques invisibles, mais dont il est facile de reconnaître l'emplacement par la direction des mouvements

des granulations. Ces granulations, quand elles ont une certaine dimension, montrent un centre un peu moins lumineux que la périphérie. Quant à l'oléoplaste (O), il est toujours vivement éclairé, et chacun des corpuscules lipoïdes qui le constituent montre toujours une périphérie beaucoup plus lumineuse que le centre. Les mitochondries et les plastes sont toujours invisibles.

Il est facile d'observer la coagulation du cytoplasme dans les cellules qui se trouvent dans les portions périphériques du fragment de l'épiderme, c'est-à-dire aux endroits qui ont été sectionnés. Là, le noyau se présente comme un coagulum granuleux et fortement lumineux. Le cytoplasme détaché de la paroi cellulosique a pris la forme d'une masse plus ou moins réticulaire constituée par d'innombrables granules lumineux ; il présente un aspect uniformément granuleux et lumineux, (aspect neigeux). Les cellules situées au voisinage des cellules lésées et mortes sont le siège d'altérations rapides dont on peut suivre les diverses phases. On constate que le noyau devient de plus en plus opalescent, puis les courants cytoplasmiques s'arrêtent : à ce moment, les granulations lipoïdes (microsomes) cessent brusquement de se déplacer dans un sens déterminé et présentent des mouvements browniens. On constate souvent, en même temps, l'apparition, dans la vacuole, de corpuscules résultant de la précipitation des colloïdes contenus en solution dans le suc vacuolaire. Bientôt, les mouvements browniens des granulations lipoïdes cessent à leur tour et le cytoplasme tout entier devient opalescent, se couvre d'un nuage (stade des nébuleuses non réductibles), puis la coagulation s'achevant, il devient entièrement granuleux et lumineux et il est alors impossible de distinguer les microsomes parmi les innombrables granulations qui le constituent. L'introduction, dans une préparation, d'une solution d'acide acétique détermine immédiatement le même phénomène, c'est-à-dire la transformation du cytoplasme optiquement vide en un coagulum uniformément granuleux et fortement lumineux et le phénomène est plus saisissant encore, si, au lieu de l'observer à l'immersion, on le suit avec un grossissement plus faible, à l'aide de l'objectif à sec D de Zeiss. L'alcool et la plupart des

fixateurs produisent le même effet. Par contre, les alcalis (solution de soude, de potasse, ammoniaque) ne troublent pas le cytoplasme qui reste optiquement vide.

Les cellules épidermiques de pétales de Tulipe montrent la même structure avec une énorme vacuole qui ne se distingue que difficilement du cytoplasme pariétal, sauf dans les variétés qui renferment de l'anthocyane et où celle-ci apparaît par conséquent colorée en rouge. Le noyau est placé sur un côté de la cellule et, de sa périphérie, rayonnent de fines trabécules cytoplasmiques traversant la vacuole. Il offre un contenu toujours finement granuleux et un nucléole souvent visible. Dans chaque cellule, on remarque un oléoplaste analogue à celui des cellules épidermiques des feuilles. Le cytoplasme toujours homogène montre, en outre, un nombre considérable de chondriocontes typiques, longs et onduleux, enchevêtrés les uns dans les autres et des mitochondries en forme de grains. Les chondriocontes, comme nous l'avons montré antérieurement, représentent les plastes. Ce sont eux qui, dans les variétés jaunes, renferment la xanthophylle. La plupart des variétés blanches contiennent d'ailleurs, dans l'onglet des pétales, un peu de xanthophylle et, dans les cellules de cette partie de l'épiderme, les chondriocontes sont colorés en jaune. Le pigment paraît être dissout dans de nombreux globules lipoïdes qui remplissent le chondrioconte (1). Ces cellules ne présentent généralement pas de courants cytoplasmiques facilement visibles. Elles sont extrêmement délicates et l'on voit se produire très rapidement, même dans le liquide de Ringer, des altérations qui portent à la fois sur le noyau, les plastes et les mitochondries. Le noyau augmente beaucoup de réfringence et sa structure granuleuse s'accentue et finit par faire place à une structure alvéolaire ou réticulaire ; en même temps, il se contracte. Les mitochondries se transforment en petites vésicules et les plastes forment, sur leur trajet, une série de vésicules qui se séparent les unes des autres, puis grossissent et prennent

(1) Nous avions admis, dans nos recherches antérieures, que le pigment était réparti dans les chondriocontes sous forme de petits grains distincts des granulations lipoïdes ; nos observations actuelles n'ont pu confirmer cette hypothèse.

l'aspect de grosses vésicules qui, pressées les unes contre les autres, simulent une structure alvéolaire du cytoplasme.

Les cellules n'ayant généralement pas de courants cytoplasmiques visibles et s'altérant très facilement, il est très difficile de savoir, quand on les examine au fond noir, si elles sont intactes ou déjà altérées. Le noyau offre une opalescence toujours marquée et le cytoplasme ne se distingue pas de la vacuole également optiquement vide : celle-ci montre assez souvent des granulations animées de mouvements browniens et fortement éclairées. Il est curieux de constater que, même dans les espèces qui renferment de l'anthocyane, c'est-à-dire un pigment à l'état de solution colloïdale, la vacuole est optiquement vide et ne se distingue que par sa couleur rouge. Dans le cytoplasme optiquement vide, on aperçoit toujours, en dehors de l'oléoplaste, des granulations lipoïdes fortement éclairées ; dans les variétés jaunes, les plastes apparaissent, d'une manière extrêmement confuse, sous forme de nombreuses granulations à contour faiblement lumineux, mais dont il est impossible d'analyser les formes (Pl. 14, fig. 1, P). Les plastes sont beaucoup plus distincts dans les variétés jaunes, mais, le plus souvent, ce sont les granulations lipoïdes très nombreuses qu'ils renferment et dans lesquelles la xanthophylle se trouve dissoute qui les rendent visibles et leurs formes restent mal définie. Dans quelques cas cependant, les chondriocontes apparaissent assez nettement sous forme de boyaux optiquement vides et à contour seulement lumineux (Pl. 14, fig. 2). Les chondriocontes ne deviennent apparents que lorsqu'ils sont en voie d'altération : on les voit alors très bien se transformer en vésicules et, quand cette transformation est opérée, on distingue très nettement, dans le cytoplasme, de grosses et nombreuses vésicules assez fortement lumineuses et tout à fait analogues à celles qu'on observe à l'éclairage ordinaire (Pl. 13, fig. 2 à 4).

E. — Cellules épidermiques d'Iris.

Les cellules épidermiques des feuilles d'Iris, qui constituent un objet très précieux pour l'étude vitale des plastes et des mitochondries, nous ont fourni des résultats intéressants. Rap-

pelons que ces cellules renferment une énorme vacuole et un cytoplasme pariétal contenant le noyau d'où partent un certain nombre de fines trabécules traversant la vacuole. La vacuole se distingue très mal du cytoplasme, mais il est facile d'obtenir sa coloration diffuse avec précipitation de quelques corpuscules animés de mouvements browniens, au moyen d'une coloration au rouge neutre. Le noyau offre un aspect légèrement plus réfringent que le cytoplasme et montre un ou deux nucléoles plus réfringents ; il apparaît presque homogène ; c'est à peine s'il montre, à un fort grossissement, une structure confusément granuleuse, peu marquée. Ce noyau augmente de réfringence et prend une structure réticulaire, lorsque les cellules commencent à s'altérer. Le cytoplasme, toujours homogène et transparent, laisse observer, avec une très grande netteté, ses mitochondries et ses plastes. Ces deux catégories d'éléments ont exactement la même réfringence. Les mitochondries apparaissent toujours sous forme de grains ou de bâtonnets. Par contre, les plastes varient beaucoup de forme, selon l'état de développement des feuilles. Dans les cellules des feuilles très jeunes, ils affectent la forme de longs chondriocontes minces et onduleux, parfois ramifiés, qui renferment de nombreuses et très petites granulations lipoïdes très réfringentes. Dans d'autres cellules un peu plus âgées, ils peuvent être dépourvus de granulations lipoïdes ou n'en contiennent que très peu. Enfin, dans quelques cellules, ils élaborent des petits grains d'amidon qui apparaissent au nombre de un ou de plusieurs sur le milieu de leur trajet et aux extrémités et qui parfois sont composés. Dans les cellules plus âgées, les plastes forment, sur leur trajet, de petits renflements qui leur donnent, selon la disposition de ces renflements, l'aspect de fuseaux, d'haltères ou de filaments moniliformes; ces renflements sont souvent occupés par un grand nombre de petites granulations lipoïdes (fig. 4, P). Tous ces éléments, mitochondries et plastes, ne sont que très lentement entraînés par les courants cytoplasmiques. A côté d'eux, on trouve toujours, dans le cytoplasme, de nombreuses granulations lipoïdes, très réfringentes et osmioréductrices (microsomes) qui se déplacent très rapidement sous l'action des courants cytoplasmiques (G*g*).

Les cellules d'*Iris* sont très délicates et s'altèrent très facilement. Leur altération se manifeste par un arrêt des courants cytoplasmiques, par une modification de réfringence et de structure du noyau, ainsi que par la vésiculisation des mitochondries

Fig. 4. — Cellule épidermique d une feuille d'*Iris germanica* observée sur le vivant. Les leucoplastes (P) renferment de petites granulations lipoïdes. M, Mitochondries. Gg, Granulations lipoïdes du cytoplasme. (Grossissement : environ 1.000). B, Fragment du cytoplasme d'une cellule semblable à un grossissement de 1.500.

et des plastes. Dans les cellules dans lesquelles les plastes renferment des granulations lipoïdes, l'un des premiers signes de l'altération est un mouvement brownien de ces corpuscules dans l'intérieur des plastes. Ceux-ci ensuite se gonflent, puis se transforment en vésicules formées par une mince paroi réfrin-

gente et un liquide dans lequel s'agitent, de mouvements browniens, les granulations lipoïdes. Néanmoins, avec certaines précautions, on arrive à éviter ces altérations et à conserver à l'état de vie ces cellules pendant quelque temps dans le liquide de Ringer.

Au fond noir, ces cellules montrent toujours un noyau faiblement opalescent avec des nucléoles optiquement vides au sein de la substance opalescente (Pl. 14 et 15). Le cytoplasme est toujours optiquement vide, de même que la vacuole. Dans la grande majorité des cas, il est absolument impossible de distinguer le chondriome et il n'y a de lumineux que les granulations lipoïdes du cytoplasme qui apparaissent avec une très grande netteté et dont on peut suivre les déplacements (Pl. 14, fig. 5). Lorsque les leucoplastes sont à l'état de chondriocontes typiques et renferment des granulations lipoïdes, celles-ci apparaissent fortement éclairées et se distinguent des granulations cytoplasmiques par leur immobilité et leur disposition en séries linéaires dans le chondrioconte invisible. Quand, au contraire, les leucoplastes offrent l'aspect de fuseaux, d'haltères ou de filaments moniliformes, les globules lipoïdes, localisés dans les renflements, apparaissent comme de petites masses mûriformes ou linéaires de grains fortement lumineux. Enfin, dès que la cellule commence à s'altérer, et bien avant que les courants cytoplasmiques n'aient cessé de se manifester, ces granulations se distinguent des granulations lipoïdes du cytoplasme (microsomes) par le fait qu'au lieu d'être entraînées par les courants cytoplasmiques, elles apparaissent agitées de mouvements browniens dans un espace très restreint correspondant aux leucoplastes invisibles (Pl. 14, fig. 6 et 7, et Pl. 15, fig. 1, P).

Dans certains cas d'ailleurs, dans des cellules où les leucoplastes ne renfermaient pas de granulations lipoïdes, il nous a été possible de distinguer les plastes et les mitochondries. Les plastes sous forme de chondriocontes apparaissaient comme des boyaux optiquement vides dont le contour présentait une très faible luminosité et les mitochondries comme de petits cercles faiblement lumineux.

Les phénomènes de coagulation du cytoplasme s'effectuent

exactement comme dans les cellules des feuilles de Tulipe (Pl. 15, fig. 2 et 3).

Afin d'éclaircir la question de la structure du noyau, nous avons examiné également les bractées membraneuses qui recouvrent les jeunes fleurs d'*Iris germanica*. Celles-ci, en effet, sont extrêmement minces et on peut les observer sans aucune manipulation. Les cellules épidermiques observées par transparence sont protégées par leur cuticule et elles se conservent très longtemps sans subir la moindre altération, sauf dans le voisinage du point où l'on a sectionné la bractée. Ces cellules, comme nous l'avons montré dans nos observations antérieures, offrent un chondriome constitué par de longs chondriocontes représentant les leucoplastes et par des grains et des bâtonnets correspondant aux mitochondries proprement dites. Dans ces cellules, le noyau présente une réfringence légèrement supérieure à celle du cytoplasme et un aspect presque homogène, à peine granuleux, avec un ou plusieurs nucléoles un peu plus réfringents et bien distincts. Il est donc bien difficile de se prononcer sur la structure du noyau. Mais si l'on observe les cellules avoisinant la portion lésée, où se produisent par conséquent des altérations, on remarque que le noyau, dont la structure granuleuse n'apparaît pas nettement dans des cellules intègres, devient beaucoup plus apparente, et dans les cellules qui, par ailleurs, ne présentent aucun signe d'altération, où les éléments du chondriome ne sont aucunement gonflés et où des courants cytoplasmiques continuent à se manifester. Dans les cellules les plus proches de la lésion, la structure granuleuse du noyau fait place à une structure réticulaire et, en même temps, le noyau diminue de volume et devient plus réfringent.

F. — Cellules épidermiques d'écailles d'Allium Cepa.

Un autre matériel très favorable aux observations vitales que nous n'avions pas étudié dans nos recherches antérieures et qu'ont fait connaître les travaux de P. Becquerel et de L. Lapicque est l'épiderme des écailles du bulbe d'*Allium Cepa*. Comme les cellules de cet épiderme n'ont guère été observées par ces auteurs qu'à l'ultramicroscope et que leur structure n'est pas

encore connue, il est nécessaire que nous les étudions d'abord à l'éclairage direct et à l'aide des techniques mitochondriales et que nous donnions une description détaillée de leurs constituants morphologiques.

Les cellules épidermiques des écailles d'*Allium Cepa* ont une structure très analogue aux cellules épidermiques que nous venons d'observer. A l'éclairage direct, elles montrent, avec une grande netteté, tous les détails de leur structure : elles constituent donc un matériel de choix et cela, d'autant plus que l'épiderme se détache avec la plus grande facilité. Ces cellules sont formées d'une grosse vacuole occupant une grande partie de leur volume et entourée d'une mince couche cytoplasmique. Le noyau occupe l'une des faces de cette couche cytoplasmique et se trouve relié à l'autre par de minces trabécules traversant la vacuole. Il présente toujours une structure très nettement granuleuse, difficile à figurer, constituée par d'innombrables granules confus et de moyenne réfringence, très serrés les uns contre les autres, au sein desquelles se distinguent un ou plusieurs nucléoles sous forme de gros globules de même réfringence que la substance granuleuse. Cette structure, tout à fait analogue à celle que nous avons décrite dans les cellules épidermiques de Tulipe, a été constatée dans des cellules qui ne témoignaient d'aucune altération, qui paraissaient parfaitement intègres et dans un nombre considérable d'observations (1). Elle paraît donc réelle. D'ailleurs, nous l'avons retrouvée, réalisée dans d'aussi bonnes conditions que possible, en observant sans manipulation, par simple transparence, des cellules des parties marginales de jeunes feuilles du bourgeon et des écailles les plus jeunes.

Le cytoplasme présente un aspect absolument homogène et translucide ; aussi dans les écailles les plus âgées, c'est-à-dire dans celles de la périphérie, là où il est réduit à une très mince zone pariétale par suite du développement de la vacuole, il est très difficile à distinguer de cette dernière sans le concours d'une observation vitale au rouge neutre.

Ce cytoplasme montre, avec une très grande netteté, son

(1) Elle a été observée également dans les mêmes cellules par Lepeschkin.

chondriome qui se compose d'un mélange de chondriocontes plus ou moins allongés, de bâtonnets et de mitochondries granuleuses (fig. 5). Tous ces éléments ont la même réfringence très faible et sont immobiles ou lentement entraînés par les

Fig. 5. — Cellules épidermiques des écailles du bulbe d'*Allium Cepa*, observées sur le vivant : on y voit des leucoplastes (P), des mitochondries (M) et des granulations lipoïdes G. Le noyau a un aspect confusément granulaire. 5, Cellule d'une très jeune écaille. 2 à 4, Cellules d'écailles plus âgées (Grossissement environ 750).

courants cytoplasmiques. Il est très difficile de distinguer, parmi ces éléments, ceux qui représentent les plastes de ceux qui correspondent aux mitochondries ordinaires, car il n'y a, à aucun moment, d'élaboration d'amidon et tous ces éléments sont inac-

tifs. Ce n'est que par une étude très minutieuse de ces éléments qu'on arrive à établir cette distinction. Dans les cellules épidermiques des écailles les plus jeunes, celles du milieu du bulbe, le chondriome ne montre que des chondriocontes assez courts, des bâtonnets, et des mitochondries granuleuses (fig. 5, 5). Dans les écailles un peu plus développées, une observation attentive montre que les chondriocontes présentent tous, sur leur trajet, de petits renflements ; tantôt ils n'en ont qu'un seul qui, selon sa position à l'extrémité ou au milieu du chondrioconte, leur donne la forme de têtards ou de fuseaux, tantôt ils en renferment plusieurs qui leur donnent des aspects moniliformes ou des formes d'haltères (fig. 5, 2 à 4 P). Très fréquemment, ces renflements se transforment en grosses vésicules formées d'une mince écorce et d'une cavité remplie d'un liquide aqueux, au milieu duquel se trouve parfois un petit granule lipoïde animé de mouvements browniens. Parmi les bâtonnets et les grains, on trouve également quelques formes un peu plus grosses que les autres et qui sont susceptibles de se vésiculiser (fig. 5). Etant donné que, dans toutes les autres cellules épidermiques des Monocotylédones que nous avons examinées, les plastes étaient représentés par des chondriocontes et les mitochondries par des grains et des bâtonnets, il semble donc permis d'admettre qu'ici encore, ce sont les chondriocontes, avec un petit nombre de grains et de bâtonnets un peu plus gros que les autres, qui correspondent aux plastes. Cette opinion est d'autant plus vraisemblable que ces éléments prennent des formes renflées, en fuseaux, haltères, têtards, qui, bien que se rencontrant aussi dans les mitochondries des cellules animales et des filaments de certains Champignons, sont plus fréquents dans les leucoplastes. C'est la conclusion adoptée d'ailleurs par A. Meyer qui, dans son livre, *Analyse der Zelle*, signale, sans s'y arrêter, l'existence, dans l'épiderme des écailles d'*Allium Cepa*, des leucoplastes, en forme de filaments pourvus de vésicules, et des mitochondries, qu'il nomme allinantes, à l'état de grains et de bâtonnets et représente, dans une figure, ces deux catégories d'éléments (1).

(1) Kuster, dans son étude sur la plasmolyse des cellules épidermiques des

Dans les cellules épidermiques des écailles plus âgées, c'est-à-dire dans celles de la périphérie, on retrouve les deux catégories d'éléments sous une forme un peu différente (fig. 5, 3). Les leucoplastes se présentent tous à l'état de chondriocontes,

Fig. 6. — Diverses formes de mitochondries (M) et des leucoplastes (P) dans les cellules épidermiques du bulbe d'*Allium Cepa*, observées sur le vivant. Gg, Granulations lipoïdes (Grossissement : environ 1.500).

mais avec des formes extrêmement variées que nous avons représentées dans la figure 6 (P). Ce sont tantôt des chondriocontes minces et extrêmement allongés, tantôt des chondriocontes courts et trapus, tantôt des chondriocontes plus ou

écailles du bulbe d'*Allium Cepa*, a aussi figuré des éléments en forme de chondriocontes, bâtonnets et grains qu'il assimile aux allinantes d'A. Meyer.

moins allongés présentant, sur leur trajet, un ou plusieurs petits renflements ou de grosses vésicules, souvent enfin des chondriocontes, vésiculeux ou non, pourvus de ramifications. La forme de ces éléments est essentiellement instable et il suffit d'en observer un, pendant quelques instants, pour le voir modifier sa forme, se ramifier ou rétracter ses ramifications, s'allonger en s'amincissant, se raccourcir en s'épaississant, former sur son trajet des renflements ou des vésicules qui disparaissent ensuite. On peut constater également la division de ces éléments qui se produit d'une manière très irrégulière (fig. 7). Les plastes se déforment surtout lorsqu'ils sont entraînés par les courants du cytoplasme ; à l'état d'immobilité, ils peuvent conserver longtemps la même forme. Ces modifications de forme que l'on rencontre aussi dans les mitochondries de certains Champignons (*Saprolegnia*) semblent dues à l'action des courants cytoplasmiques sur la substance très plastique de ces éléments et peut-être aussi à des variations de tension superficielle.

Les mitochondries proprement dites se présentent, comme précédemment, sous forme de grains ou de courts bâtonnets (fig. 6, M). Souvent les grains présentent des stades de division en forme d'haltères, mais beaucoup d'entre ces éléments se sont allongés en chondriocontes qui diffèrent des leucoplastes par leur épaisseur et leur longueur inférieures, ainsi que par leurs formes plus régulières.

Ainsi les plastes se présentent presque toujours sous forme de chondriocontes très allongés, parfois ramifiés, pourvus, sur leur trajet, de petits renflements ou de grosses vésicules, tandis que les mitochondries sont représentées par des grains, des bâtonnets et aussi par des chondriocontes, mais sans renflements, ni vésicules. Ces deux catégories d'éléments présentent les mêmes caractères microchimiques et se colorent vitalement l'un et l'autre d'une manière diffuse par les violets de Dahlia et de méthyle ainsi que par le vert Janus. La coloration aux violets de Dahlia et de méthyle s'effectue dans les cellules encore vivantes et pourvues de courants cytoplasmiques et dans lesquelles le noyau n'est pas coloré ; mais elle est rapidement suivie de la mort des cellules qui se traduit par une coloration du

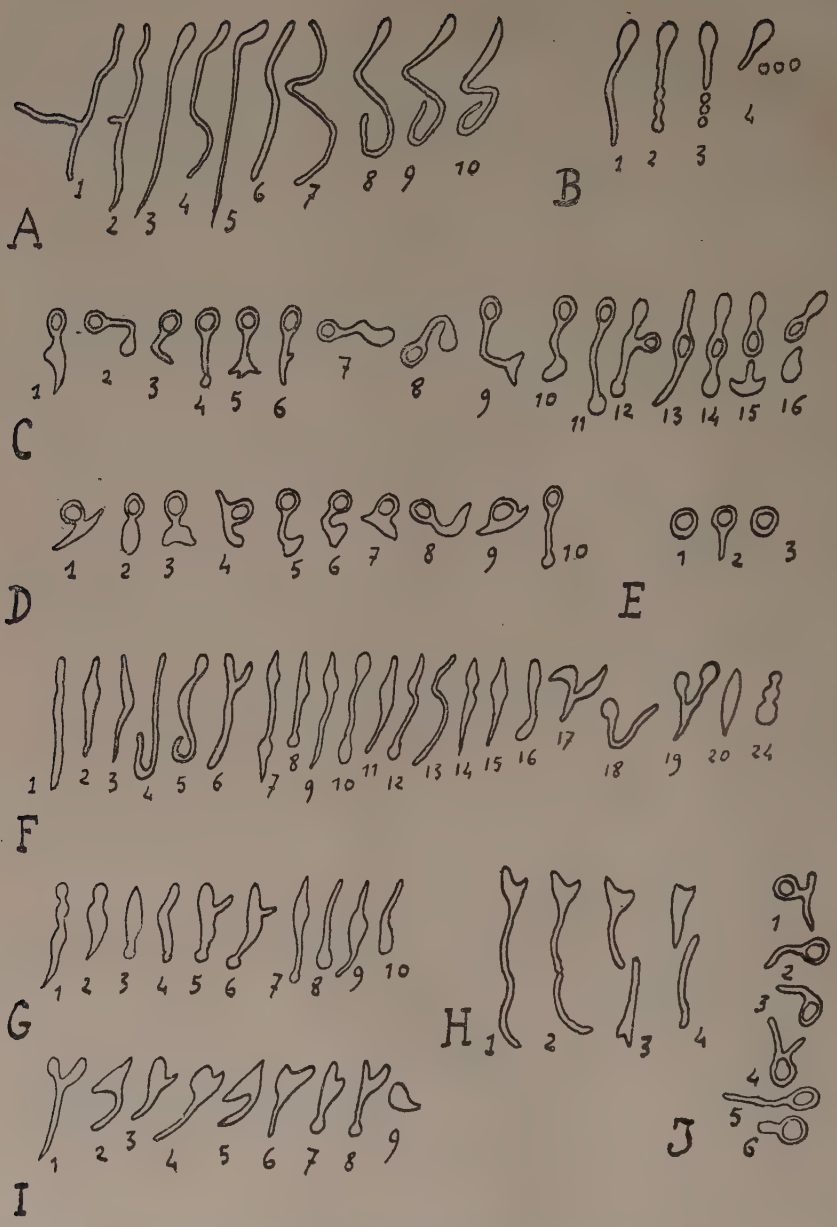


Fig. 7. — Leucoplastes des cellules épidermiques d'*Allium Cepa* observées sur le vivant, pendant un certain temps (5 à 30 minutes), et leurs modifications de formes. A, B, C, D, E, F, G, H, I, J. Diverses formes affectées par un même leucoplaste, pendant l'observation. Dans B, C et H, le leucoplaste s'est divisé d'une manière irrégulière.

noyau, par l'arrêt des courants cytoplasmiques et par une augmentation d'intensité de la coloration des plastes et des mitochondries. Il s'agit donc d'une coloration en quelque sorte subléthale. La coloration par le vert Janus est également vitale mais aussi suivie rapidement de la mort des cellules ; elle est fugace pour les plastes et ces éléments se décolorent lorsque la cellule meurt, tandis que les mitochondries conservent leur coloration. Il est à remarquer que les violets de Dalhia et de méthyle colorent, d'une manière diffuse, le noyau, alors que la cellule est encore vivante et présente des courants cytoplasmiques. Au contraire, le vert Janus ne se fixe sur le noyau qu'après la mort des cellules.

Nous nous sommes demandé si les vésicules que l'on observe sur le trajet des plastes ne résulteraient pas d'une altération de ces éléments qui se produirait pendant l'observation. Toutefois, comme ces vésicules ont été rencontrées dans toutes les cellules, dans de très nombreuses observations réalisées avec toutes les précautions nécessaires, et qu'on les retrouve constamment après traitement par les méthodes mitochondriales, on est obligé d'admettre qu'elles représentent bien des formes réelles des leucoplastes. Il est difficile d'interpréter leur signification. Peut-être sont-elles l'indice de l'élaboration, au sein de ces éléments, d'un produit liquide, non décelable, ou bien au contraire correspondent-elles simplement à une dégénérescence de ces éléments qui, par suite de l'absence de production d'amidon, semblent avoir perdu toute fonction.

En dehors de ces éléments, plastes et mitochondries, de réfringence faible, quoique très distincts, on trouve, dans le cytoplasme, un plus ou moins grand nombre de granulations sphériques et d'une réfringence très accusée qui sont entraînées beaucoup plus rapidement par les courants cytoplasmiques que les mitochondries. Ces granulations sont osmioréductrices et colorables par le Soudan ; elles représentent des granulations lipoïdes (microsomes). Elles sont extrêmement nombreuses dans les cellules épidermiques des écailles les plus externes, c'est-à-dire les plus âgées (fig. 5 et 6, Gg) ; elles le sont moins dans les cellules épidermiques des écailles centrales plus jeunes. Le cytoplasme présente presque toujours une cir-

culation très active qui se traduit par le déplacement de ces granulations. Il nous a paru que cette circulation était beaucoup plus active dans les cellules épidermiques des écailles les plus externes que dans les écailles les plus internes ; dans celles-ci, elle semble faire souvent défaut.

La méthode de Regaud conserve admirablement les leucoplastes et les mitochondries qui se détachent en noir foncé au sein du cytoplasme coagulé sous forme d'un nuage gris pâle. (Pl. 17 et 18). Ces éléments présentent exactement les mêmes formes qu'ils possédaient sur le vivant. Par contre, les granulations lipoïdes sont détruites par le traitement à l'alcool et au xylol nécessité par l'inclusion à la paraffine. Ils sont, au contraire, conservés par le fixateur de Meves et, si l'on colore par la méthode de Küll (fuchsine acide), les coupes fixées par ce procédé, on obtient parfois, en même temps, les plastes et les mitochondries, colorés en rouge par la fuchsine, et les microsomes, noircis par l'acide osmique, mais le plus souvent ces derniers disparaissent dans le baume de Canada.

Observées à l'ultramicroscope, les cellules de l'épiderme des écailles d'*Allium Cepa* montrent un noyau qui présente toujours une opalescence très nette, donnant même l'impression d'un coagulum dans lequel on distingue parfois les nucléoles en noir. Le cytoplasme est optiquement vide et l'on ne distingue que les granulations lipoïdes (Pl. 12, fig. 1, G) qui montrent, à l'éclairage direct, une réfringence très accusée. Celles-ci apparaissent plus nettement encore à l'ultramicroscope parce qu'elles se détachent sur le fond noir du cytoplasme. Elles ont une forme parfaitement sphérique (boule de billard) et montrent, quand elles ont une certaine dimension, une périphérie beaucoup plus fortement lumineuse que le centre. On les voit se déplacer très rapidement sous l'influence des courants cytoplasmiques invisibles, mais dont la direction de leur course indique la place. Ces cellules présentent donc l'aspect bien décrit par P. Becquerel et L. Lapicque (1) et les granulations

(1) M. Lapicque et M. Becquèrel nous ont montré ces cellules à l'ultramicroscope et nous ont fait constater la présence de ces granulations fortement lumineuses et leurs déplacements.

dont nous venons de parler sont désignées par P. Becquerel sous le nom de microsomes.

Dans certaines cellules, cependant, il nous a été possible d'observer à un très faible grossissement, d'une manière très floue, mais cependant distincte, les plastes et les mitochondries. Ces éléments apparaissaient, comme dans les cellules épidermiques des feuilles d'*Iris germanica*, grâce à une très faible luminosité de leur contour. Les leucoplastes (chondriocontes) se présentaient sous forme de boyaux plus ou moins longs, noirs, avec un contour faiblement lumineux (Pl. 12, fig. 2 et 3, et planche 13, fig. 1, P) et les mitochondries comme de petits cercles à peine lumineux (Pl. 12, fig. 2 et 3 et pl. 13, fig. 1, M). On pouvait voir parfois ces éléments se déplacer d'une manière beaucoup plus lente que les mitochondries et les chondriocontes se déformer au cours de leur déplacement. Dans les mêmes préparations, on apercevait même, dans quelques cas, des trabécules cytoplasmiques optiquement vides, grâce à une faible luminosité de leur surface de contact avec la vacuole. Les cellules où l'on observait ces détails étaient toujours celles des écailles les plus âgées, c'est-à-dire celles où P. Becquerel a lui-même observé des chondriocontes. Au contraire, dans les cellules épidermiques des écailles les plus internes, nous ne sommes jamais parvenu à les distinguer.

Les phénomènes de coagulation du cytoplasme présentent les mêmes particularités que dans les cellules épidermiques que nous avons observées précédemment (Pl. 13, fig. 2). Ils ont d'ailleurs été l'objet de très bonnes descriptions de P. Becquerel et de L. Lapicque. Signalons cependant que l'introduction, dans une préparation d'épiderme vivant, d'une solution d'acide acétique détermine instantanément une accentuation très marquée de la luminosité du noyau qui prend l'aspect d'un coagulum plus dense et plus lumineux que le cytoplasme. Sous l'influence des alcalis (solutions d'ammoniaque ou de potasse), le noyau conserve, au contraire, son aspect normal, jusqu'à une certaine concentration de la solution ; au delà, il devient optiquement vide. Ces faits déjà constatés par Fauré-Frémiet dans certains Animaux ont été d'ailleurs observés dans toutes les autres cellules que nous avons examinées, à ce point de vue, il est vrai, d'une manière moins précise.

G. — Cellules des tissus chlorophylliens d'Iris, Tulipe et d'Elodea canadensis.

Il était intéressant de chercher à connaître l'état physique des chloroplastes et, à cet effet, nous avons étudié diverses cellules chlorophylliennes. Il est assez difficile de trouver, dans les Phanérogames, un matériel favorable à cette étude, étant donné que les chloroplastes sont ordinairement localisés exclusivement dans les cellules du mésophylle des feuilles ou du parenchyme cortical des tiges et ne peuvent, par conséquent, être observés qu'au moyen de coupes ou par transparence dans les feuilles minces. Les coupes présentent l'inconvénient de léser les cellules et d'amener leur rapide altération. Quant aux examens par transparence dans des tissus d'une certaine épaisseur, ils ne permettent pas d'obtenir facilement le fond noir. Néanmoins, nous avons pu réaliser des observations, dans d'assez bonnes conditions, sur les cellules du mésophylle des feuilles de Tulipe et d'*Iris germanica* en détachant des fragments d'épiderme dans lesquels on laissait subsister l'assise de cellules du mésophylle placée immédiatement au-dessous. Le fragment était placé dans le liquide de Ringer et était disposé sur la lame de manière à ce que la face supérieure corresponde aux cellules du mésophylle. Nous avons pu également réaliser l'observation au fond noir des parties marginales très minces des feuilles d'*Elodea canadensis*. Enfin, nous avons eu recours également aux cellules des poils sécréteurs d'essence des feuilles de Tabac qui renferment de petits chloroplastes.

Les cellules du mésophylle de Tulipe observées à l'éclairage ordinaire montrent une grosse et unique vacuole et un cytoplasme pariétal renfermant le noyau qui a toujours un aspect finement granuleux. Le cytoplasme montre de gros chloroplastes qui ont un aspect homogène et un mélange de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets. On y voit également un assez grand nombre de granulations lipoïdes. Au fond noir, le noyau apparaît toujours avec une opalescence marquée ; le cytoplasme est optiquement vide et ne laisse voir que les granulations lipoïdes (Pl. 15, fig. 4, G) ; les mitochondries sont toujours invisibles. Quant aux chloroplastes, ils apparaissent

optiquement vides et visibles seulement par leur couleur et leurs contours lumineux (Pl. 15, fig. 4, Ch).

Les cellules du mésophylle des feuilles d'*Iris germanica* offrent, à l'éclairage ordinaire, une structure tout à fait semblable. Cependant le noyau ne présente qu'une apparence granuleuse extrêmement discrète. De plus, les mitochondries sont souvent représentées en partie par des chondriocontes. Quant aux chloroplastes, lorsqu'on les observe à un très fort grossissement, ils montrent parfois un aspect grenu, comme s'ils étaient formés par une infinité de petites granulations de chlorophylle, à peine distinctes et à la limite de la visibilité. Au fond noir, le noyau offre une faible opalescence et le cytoplasme optiquement vide ne laisse voir que les granulations lipoïdes et les chloroplastes; ceux-ci apparaissent, comme dans les cellules d'*Iris*, en noir verdâtre avec un contour faiblement lumineux.

Dans les cellules de la feuille d'*Elodea canadensis* observées à l'éclairage direct, le noyau donne l'impression d'être constitué par une substance homogène et plus visqueuse que le cytoplasme. Il montre simplement un nucléole plus réfringent. Le cytoplasme renferme des chloroplastes qui, dans les cellules de la partie périphérique de la feuille, sont relativement petits ; ceux-ci sont souvent tout à fait homogènes; dans d'autres cas, ils ont la même apparence très légèrement grenue que ceux de la feuille d'*Iris*. Le cytoplasme homogène et translucide renferme de nombreuses mitochondries, sous forme de grains, de bâtonnets ou de chondriocontes, et des granulations lipoïdes très réfringentes qui souvent sont déplacées sous l'action des courants cytoplasmiques. La vacuole renferme parfois des corpuscules réfringents animés de mouvements browniens. Au fond noir, le noyau paraît parfois en noir avec un contour seul lumineux, comme l'a décrit R. Price, mais le plus souvent avec une opalescence à peine marquée (Pl. 15, fig. 5 et Pl. 16, fig. 1 et 2). Le cytoplasme est optiquement vide et il n'y a d'éclairé que les granulations lipoïdes (G) et souvent quelques corpuscules intravacuolaires et animés de mouvements browniens. Les chloroplastes (C) sont toujours noirs verdâtre avec un contour seul lumineux, comme les a décrits R. Price.

Les poils sécréteurs de Tabac comprennent un pédicelle plus

ou moins allongé constitué par plusieurs cellules disposées en files et par une cellule terminale beaucoup plus grosse et plus ou moins sphérique. L'observation de ces cellules, à l'éclairage ordinaire, montre, en dehors du noyau, de très petits chloroplastes d'ailleurs peu nombreux, des granulations réfringentes (microsomes) qui représentent des essences ou des lipoïdes et une grosse vacuole dans laquelle se trouve soit une fine poussière de petits cristaux d'oxalate de calcium qui sont agités de mouvements browniens, soit un petit nombre de très gros cristaux du même sel. Les mitochondries ne sont pas visibles. Au fond noir (Pl. 13, fig. 3 et 4), le noyau apparaît avec une opalescence marquée; le cytoplasme est noir avec des microsomes (G) vivement éclairés et se confond avec les vacuoles. Les cristaux d'oxalate de calcium apparaissent avec une forte luminosité (Pv et C). Quant aux chloroplastes (Chl), ils sont à peine visibles et ne se distinguent que par leur contour très faiblement lumineux.

H. — Protonema de Mousses et diverses Algues filamenteuses.

Les protonema de Mousses et les Algues filamenteuses constituent le matériel le plus favorable pour l'étude des chloroplastes, aussi avons-nous complété nos recherches par l'examen de quelques Algues vertes, telles que les *Cladophora* et les Spirogyres, ainsi que des protonema de Mousses. Les protonema montraient, à l'éclairage ordinaire, de gros chloroplastes et des granulations lipoïdes ; les mitochondries n'étaient pas visibles ; à l'ultramicroscope, les chloroplastes apparaissaient avec un contour lumineux et les granulations lipoïdes étaient très fortement éclairées (Pl. 16, fig. 4 et 5).

Les *Cladophora*, comme on le sait, offrent un seul chloroplaste par cellule, appelé ordinairement chromatophore, et qui a la forme d'un fin réseau distribué dans tout le cytoplasme. Dans l'espèce que nous avons observée, les noyaux que l'on sait être au nombre de plusieurs par cellule, n'étaient pas visibles à l'éclairage ordinaire. Les vacuoles et les mitochondries n'apparaissaient pas non plus et l'on ne distinguait que le

chromatophore constitué par de fins filaments anastomosés en réseau, d'apparence homogène, et renfermant sur leur trajet de nombreux épaississements assez volumineux contenant, chacun, un pyrénoïde entouré d'une couronne d'amidon. A l'ultramicroscope (Pl. 16, fig. 6), le cytoplasme apparaissait en noir, sans qu'on puisse distinguer les vacuoles, et le chromatophore était à peine distinct par sa couleur verte et ses bords très faiblement lumineux (C) ; seuls, les grains d'amidon entourant chaque pyrénoïde apparaissaient avec une très forte luminosité (A).

La Spirogyre que nous avons examinée présentait la structure décrite par Lapicque et Mangenot. A l'éclairage ordinaire, le chromatophore, d'aspect tout à fait homogène, présentait des spires assez espacées et chaque pyrénoïde était entouré d'une couronne de grains d'amidon. Le cytoplasme, à peine distinct de la vacuole, montrait de nombreuses et minuscules particules ressemblant un peu aux microsomes, par leur forte réfringence, bien que n'ayant pas la forme sphérique, mais n'offrant aucune des réactions des lipoïdes. Ces particules qui présentaient des mouvements d'apparence brownienne ont pu être assimilées aux paillettes scintillantes de L. Lapicque. Une observation attentive à un très fort grossissement révélait, dans le cytoplasme, un chondriome très faiblement réfringent sous forme de grains et de bâtonnets. Le noyau, placé au milieu de la cellule, n'était visible que lorsqu'on mettait au point cette région de la cellule : il apparaissait sous forme d'une sorte de disque aplati d'apparence homogène, avec un gros nucléole central et entouré par de minces trabécules cytoplasmiques s'irradiant autour de lui. A l'ultramicroscope (Pl. 16, fig. 7), le cytoplasme apparaissait optiquement vide avec de très nombreuses paillettes scintillantes (P), fortement éclairées, présentant des mouvements ressemblant aux mouvements browniens et répondant en tout point à la description des paillettes scintillantes de L. Lapicque. Le noyau était toujours invisible. Quant au chromatophore, on ne pouvait le distinguer que par sa couleur verte et par le bord très faiblement lumineux de certaines de ses spires (C) ; les grains d'amidon entourant les pyrénoïdes étaient seuls fortement éclairés (A).

Nous avons pu constater qu'en traitant les cellules chlorophylliennes des Phanérogames et les deux Algues dont nous venons de parler par des solutions d'acide acétique ou par l'alcool, les chloroplastes, aussi bien ceux des feuilles d'Iris, de Tulipe ou d'*Elodea* que le gros chromatophore des Algues vertes, passent de l'apparence optiquement vide à l'apparence granuleuse et assez fortement lumineuse. En même temps, le cytoplasme et le noyau deviennent d'une vive luminosité et prennent l'aspect neigeux. La modification produite dans le noyau est très manifeste dans les cellules comme celles de l'*Elodea* dans lesquelles cet organe se présente, dans les conditions normales, comme un corps à peu près optiquement vide ou d'une faible opalescence. En traitant les mêmes cellules par les alcalis, le noyau ne se modifie pas, il reste noir dans les feuilles d'*Elodea*, et les chloroplastes conservent leur caractère optiquement vide ; par contre, les alcalis déterminent, dans les Spirogyres, une forte précipitation des composés tanniques des vacuoles qui donne aux cellules un aspect entièrement opalescent au milieu duquel se détache en vert le chromatophore (1) : celui-ci est toujours fortement gonflé et transformé en boudin ; il est optiquement vide.

I. — Cellules des dents des jeunes folioles de Rosier.

Les observations que nous venons de faire sur les cellules les plus variées montrent que les vacuoles ne se distinguent généralement pas du cytoplasme ; elles apparaissent optiquement vides et lorsqu'elles montrent des granulations animées de mouvements browniens, celles-ci sont toujours visibles à l'éclairage ordinaire. Cependant, beaucoup de ces vacuoles renferment en dissolution des substances colloïdales de nature diverse (métachromatine, pigments anthocyaniques, tanins, etc.)

(1) Ce fait est peut-être à rapprocher des observations de Lapicque et Kergomard qui ont constaté que les Spirogyres, placées brusquement à la lumière, après avoir séjourné à l'obscurité et dans une eau acidifiée par la respiration, présentent, sous l'influence de l'alcalinisation produite par la fonction chlorophyllienne, une curieuse modification de leur chromatophore qui prend l'aspect d'un chapelet de saucisses.

que l'on peut facilement précipiter par l'action des colorants vitaux et de divers agents chimiques. Il était intéressant de savoir comment se comportent, au fond noir, les formes initiales, mitochondriformes et semi-fluides, du vacuome. Cette étude est malheureusement difficile parce que les épidermes dans lesquels le vacuome est à cet état appartiennent à des feuilles très jeunes dans lesquelles l'épiderme, très adhérent, est impossible à détacher. Cependant, il nous a été possible

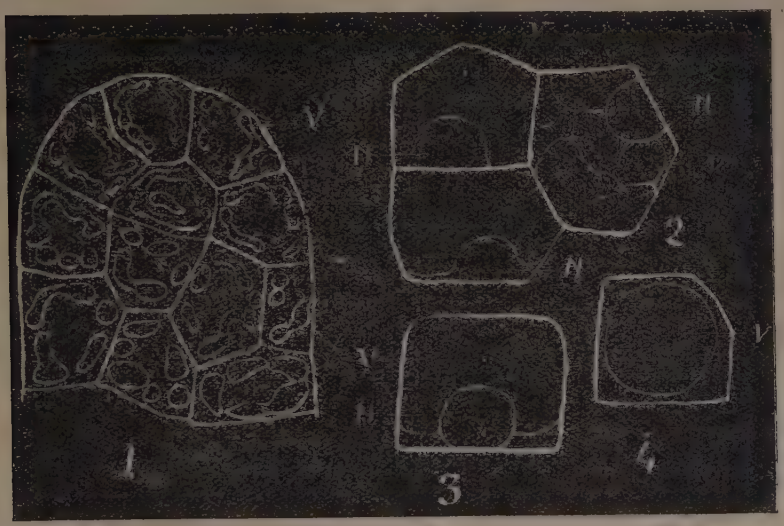


Fig. 8. — 1, Dent d'une jeune foliole de Rosier observée au fond noir. Les vacuoles filamenteuses (V) apparaissent optiquement vides avec un contour lumineux. 2 à 4, Cellules plus âgées d'une dent. Les vacuoles (V) se sont fusionnées en une seule, toujours optiquement vide (N, noyau) (Grossissement : 1.000).

d'observer au fond noir, dans certains cas, les cellules des parties marginales les plus minces des dents des jeunes folioles de Rosier.

Rappelons que ces cellules, comme nous avons été les premiers à le montrer, permettent de suivre toutes les phases de la formation du pigment anthocyanique qui coïncide avec l'apparition des vacuoles. Celles-ci, dans les cellules les plus jeunes, celles de l'extrémité des dents, tantôt renferment un

composé phénolique incolore et très réfringent qui se transforme, à un stade quelconque du développement du vacuome, en pigment anthocyanique ; tantôt elles contiennent, dès le début, de l'anthocyane. Ces vacuoles, même les plus jeunes, sont parfaitement visibles aussi bien quand elles ne renferment qu'un composé phénolique incolore, en raison de la forte réfringence de ce dernier, que quand elles sont colorées. Elles montrent d'abord des formes filamenteuses et réticulaires qui, ensuite, se gonflent par hydratation et se fusionnent pour ne plus constituer qu'une seule vacuole par cellule.

A l'ultramicroscope (fig. 8), le cytoplasme apparaît toujours optiquement vide ; le noyau n'est pas visible ou seulement par un contour lumineux, et les vacuoles, même les plus jeunes, sont elles-mêmes optiquement vides et ne se distinguent que par leur contour lumineux et leur couleur rouge lorsqu'elles renferment de l'anthocyane (fig. 8).

K. — Action de certains fixateurs sur le cytoplasme.

Il était intéressant de rechercher comment se comporte le cytoplasme vis-à-vis des fixateurs en observant, au fond noir, les cellules traitées par différents fixateurs. Dans nos recherches antérieures sur les cellules épidermiques de Tulipe et d'Iris, nous avons montré que certains fixateurs renfermant de l'acide acétique (liquides de Bouin et de Lenhossèk, par exemple) déterminent un bouleversement considérable du cytoplasme et altèrent les mitochondries et les plastes, tandis que, au contraire, les fixateurs employés pour les mitochondries (liquide de Regaud, notamment) donnent une coagulation très peu brutale du cytoplasme, qui apparaît, après coloration, sous forme d'un nuage faiblement teint et conservent aussi fidèlement que possible les mitochondries et les plastes qui gardent exactement les mêmes formes que sur le vivant.

Dans nos recherches présentes, nous avons fait une série d'essais sur le *Saccharomycodes Ludwigii*, la Spirogyre, les feuilles d'*Elodea canadensis* et les cellules épidermiques du bulbe d'*Allium Cepa*. Nous avons traité ce matériel par divers fixateurs (alcool absolu, liquides de Bouin, Carnoy, Lenhosséк,

Lawdowsky, Perenyi, Regaud, Meves et formol) (1). Nous l'avons observé comparativement après la fixation à l'éclairage ordinaire et à l'éclairage au fond noir. Les cellules de l'épiderme d'*Allium* ont été, en outre, colorées par l'hématoxyline ferrique après chacune de ces fixations. Ces essais ont donné les résultats suivants :

1° Le noyau des cellules épidermiques d'*Allium Cepa*, qui montre, sur le vivant, une structure granuleuse, n'apparaît pas très sensiblement modifié lorsqu'on l'observe à l'éclairage ordinaire, à la suite de ces fixateurs : il présente la même structure granulaire seulement beaucoup plus accentuée. Seul, le liquide de Perenyi le contracte et le déforme d'une manière très marquée. Le liquide de Regaud, au contraire, le conserve avec un aspect très semblable à celui qu'il présentait sur le vivant sans aucune accentuation de sa structure granulaire. Observé au fond noir, après l'action de ces fixateurs, le noyau montre toujours une très forte luminosité, très sensiblement plus accentuée que celle du cytoplasme et un aspect confusément granuleux. Seuls, le liquide de Regaud et le formol (2) le font apparaître avec une faible opalescence et un aspect pas très différen de celui qu'il présentait sur le vivant.

Le noyau des cellules d'*Elodea canadensis* qui, sur le vivant, montre, à l'éclairage ordinaire et à l'éclairage au fond noir, un

(1) Voici la composition de ces liquides : *Liquide de* Bouin : acide picrique, solution aqueuse saturée, 75 p., formol, 20 p., acide acétique, 5 p. *Liquide de* Carnoy : acide acétique, 1 p., alcool absolu, 3 p. *Liquide de* Lenhossék : bichlorure de Hg, 75 p , alcool absolu, 20 p., acide acétique, 3 p. *Liquide de* Lawdowsky : acide acétique à 1 p. 100, 15 p., acide osmique 2 p. 100, 4 p., eau, 20 p., alcool 95°, 3 p. *Liquide de* Perenyi : acide chromique à 0,5 p. 100, 3 p., acide nitrique à 10 p. 100, 4 p., alcool, 3 p. *Liquide de* Meves : acide chromique 1 p. 100, 15 p., acide osmique 2 p. 100, 4 p. *Liquide de* Regaud : formol, 20 p., solution aqueuse de bichromate de K, 80 p.

(2) Ces faits sont à rapprocher des résultats obtenus par Mascré : cet auteur a constaté, en effet, que les fixations par le formol déterminent une structure simplement granuleuse du noyau, tandis que les fixations effectuées par le formol additionné d'acides monochloracétique, cyanacétique ou trichloracétique font apparaître une structure réticulaire. Noël et Mangenot avaient d'ailleurs constaté que le formol donne au noyau une structure granuleuse que ces auteurs considèrent comme se rapprochant le plus de l'aspect que présente cet organe dans les cellules vivantes.

aspect à peu près homogène, est, au contraire, profondément modifié par l'action de ces fixateurs ; il apparaît à l'éclairage ordinaire avec une structure réticulaire très nette et, au fond noir, sous forme d'un coagulum très fortement lumineux. Le liquide de Regaud et le formol cependant le font apparaître, au fond noir, simplement avec une opalescence peu marquée.

2° Dans tous les cas observés (*S. Ludwigii*, cellules d'*Allium Cepa* et d'*Elodea canadensis*), l'alcool absolu et la plupart des fixateurs qui renferment de l'acide acétique et de l'alcool (Carnoy, Lawdowsky, Lenhossék, Perenyi, Bouin) déterminent un bouleversement très accentué dans l'architecture du cyto-

Fig. 9. — Cellules de *Saccharomyces Ludwigii*. A, fixées par le liquide de Bouin. B, fixées par le liquide de Regaud (Grossissement : environ 1.000).

plasme ; celui-ci, à la lumière directe, se montre souvent détaché de la paroi cellulaire et avec l'aspect d'un réseau grossier dans lequel les mitochondries et les leucoplastes de l'*Allium Cepa* sont devenus, en général, invisibles. Les chloroplastes de l'*Elodea canadensis* sont eux-mêmes contractés et ont pris une structure granuleuse. Au fond noir, le cytoplasme offre un aspect grossièrement granuleux et une forte luminosité, quoique sensiblement moins accentuée que celle du noyau (Pl. 16, fig. 3). Les chloroplastes d'*Elodea canadensis* se présentent sous forme de corpuscules un peu plus lumineux que le cytoplasme. L'observation des cellules d'*Allium Cepa* fixées par ces procédés et colorées à l'hématoxyline ferrique fournissent d'intéressantes données sur les mitochondries et les plastes que nous ne ferons que signaler ici, nous réservant d'y revenir plus tard.

Ces éléments paraissent à peu près détruits, après fixation à l'alcool absolu : et il est impossible de les retrouver. Par contre, ils sont toujours reconnaissables après fixation aux liquides de Lenhosséк, de Lawdowsky et de Perenyi, à condition que

Fig. 10. — Cellules épidermiques des écailles du bulbe d'*Allium Cepa*, examinées au fond noir. 1, fixée par le liquide de Bouin. 2, fixée par le liquide de Regaud (Grossissement : environ 750).

les préparations soient à peine différenciées. Ils apparaissent contractés et déformés dans le cytoplasme grossièrement coagulé et leur coloration disparaît, pendant la régression, au moment où le noyau est encore surcoloré, de telle sorte qu'on

ne le retrouve plus dans les préparations convenablement différenciées. Ces éléments se retrouvent même après fixation au liquide de Carnoy, bien que profondément altérés. Ils sont, au contraire, beaucoup mieux conservés par le liquide de Bouin qui cependant provoque une coagulation non moins brutale du cytoplasme.

Le liquide de Meves, au contraire, produit une coagulation beaucoup moins brutale du cytoplasme qui, à l'éclairage direct, apparaît sous forme d'un fin réseau, finement granulaire, au sein duquel les mitochondries et les plastes de l'*Allium* se distinguent avec une grande netteté. Enfin les chloroplastes de l'*Elodea* sont parfaitement conservés et se présentent sous forme de corpuscules noirs à contour seul lumineux, sans aucune contraction.

C'est le liquide de Regaud qui, parmi tous ces fixateurs, donne incontestablement la meilleure fixation du cytoplasme. Celui-ci apparaît cependant à l'éclairage direct avec un aspect très finement granulo-alvéolaire, mais les mitochondries et les leucoplastes d'*Allium Cepa*, de même que les chloroplastes d'*Elodea canadensis* sont parfaitement conservés avec les mêmes formes que sur le vivant. Au fond noir, le cytoplasme apparaît toujours seulement avec une opalescence peu accentuée au milieu de laquelle ces granulations lipoïdes conservées sont visibles par leur forte luminosité (fig. 9 et 10). Les chloroplastes sont également parfaitement conservés ; ils se montrent absolument homogènes à l'éclairage direct et se présentent, à l'ultramicroscope, comme des corpuscules noirs à contour seulement fortement lumineux. Au contraire, les Spirogyres fixées par le liquide de Regaud offrent toujours une structure fortement granulaire d'une luminosité très accentuée, beaucoup plus marquée qu'après tous les autres fixateurs et au milieu de laquelle le chromatophore se détache en sombre, mais cet aspect est dû à la coagulation des tanins contenus dans la vacuole.

Le formol donne des résultats assez analogues et conserve parfaitement les mitochondries et les plastes.

Il semble donc résulter de ces essais que, parmi tous les fixateurs, le liquide de Regaud est de beaucoup celui qui donne

la coagulation la plus fine et conserve le mieux la structure de la cellule.

III. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

Il nous reste maintenant à résumer nos observations en les confrontant avec celles de nos devanciers et à chercher à les interpréter. Nous examinerons successivement le noyau et le cytoplasme.

A. — Noyau.

Rappelons que la question de la structure du noyau est actuellement l'une des plus discutées de la Cytologie et que les auteurs se partagent, à ce sujet, entre deux opinions tout à fait différentes qui ont une portée générale, car elles intéressent la question de l'individualité des chromosomes et du rôle de ces éléments dans l'hérédité. Les uns se rallient à la théorie classique qui admet que le noyau possède une organisation semblable à celle que l'on met en évidence après fixation, avec un réseau chromatique, et supposent que celui-ci résulte de la soudure des chromosomes. Cette théorie permet donc d'admettre que les chromosomes conservent leur individualité dans le noyau quiescent, ce qui leur paraît nécessaire pour expliquer le rôle attribué à ces éléments dans les phénomènes d'hérédité. Elle est soutenue par un grand nombre de cytologistes et notamment par l'école de Louvain (1).

Les autres, avec Della Valle, admettent que le noyau étant à l'état colloïdal doit forcément prendre, sous l'influence des fixateurs, une structure réticulée due à sa fixation. D'après cette théorie, le noyau devrait donc avoir une structure plus ou moins homogène, semblable à celle du cytoplasme et les chromosomes se formeraient par précipitation de cette substance.

Les partisans de la théorie du noyau structuré ont cherché à

(1) Pour ce qui concerne la bibliographie de cette question, nous renvoyons le lecteur aux deux remarquables mémoires de Martens.

démontrer que le noyau observé dans les cellules vivantes possède toujours une structure, ce dont ils profitent pour admettre que les chromosomes conservent leur individualité dans le noyau quiescent. Ce sont surtout les botanistes qui se rangent parmi les partisans de cette théorie. Ils s'appuient pour cela sur des observations vitales, toujours faciles à réaliser dans les cellules végétales. Rappelons, pour ne citer que les travaux les plus récents, qu'un grand nombre d'observations ont été faites, et, sauf quelques rares exceptions, tous les auteurs ont constaté des noyaux granuleux. Au cours de nos observations vitales sur le chondriome, nous avons décrit le noyau comme présentant toujours une structure finement et confusément granuleuse. De Litardière, qui a observé le noyau des feuilles d'*Hymenophyllum*, a constaté également la structure granuleuse du noyau quiescent. Plus récemment, Martens a consacré une très importante étude vitale au noyau, et a cherché à apporter la preuve que le noyau des cellules végétales est toujours structuré. Ce savant a choisi, comme objet d'étude, les stigmates plumeux d'*Arrhenatherum elatius*, les poils staminaux de *Tradescantia*, les radicelles très minces du tubercule de *Solanum* et les radicelles de *Callitriche*. Ses observations ont été faites avec les plus grandes précautions, en évitant toute cause d'altération (lésion des cellules par les coupes, compression de la lamelle, etc.). L'auteur a notamment observé les radicelles de *Solanum* sous le microscope sans les détacher du tubercule et a pu observer ainsi les noyaux, au moyen d'objectifs à foyer pas très court et par simple transparence dans des conditions qui ne permettaient de supposer aucune altération. Il a toujours constaté que le noyau présente une structure finement granuleuse et il admet que les granules qui la constituent, très serrés les uns contre les autres, seraient réunis par de fins tractus, constituant un réseau tel qu'on l'observe après fixation.

Quelques zoologistes tels que Jolly et Jolly et Commandon ont aussi décrit des noyaux granuleux dans des observations vitales très précises.

Les partisans de la seconde théorie s'appuient sur le fait que le noyau se présente généralement sur le vivant, dans les cellules animales, sous forme d'un corps un peu plus réfringent

que le cytoplasme, mais d'apparence homogène, et que, d'ailleurs, même après fixation, il est très loin d'offrir toujours la structure réticulée; la plupart des noyaux ne montrent, en effet, que de nombreuses granulations chromatiques disséminées dans la substance achromatique du noyau ou seulement quelques grosses masses chromatiques. Cette théorie n'a que très peu d'adhérents parmi les botanistes et on ne connaît qu'un petit nombre d'observations où le noyau des cellules végétales ait été trouvé homogène; citons surtout celles de Price, de Yamaha et de Schœde.

Cette conception du noyau homogène a gagné du terrain dans ces dernières années : car elle a trouvé un appui dans les recherches effectuées sur les cellules animales par G. Levi et R. et H. Lewis et par Chambers. G. Levi ainsi que R. et H. Lewis ont constaté que, dans les cultures de tissus, le noyau apparaît le plus souvent homogène. D'autre part, Chambers, à l'aide du microscope à microdissection, a montré que le noyau est l'organe le plus fragile de la cellule et qu'il suffit de percer la paroi d'une cellule pour qu'immédiatement le noyau passe à la structure réticulée due à sa coagulation. Enfin, le même savant est parvenu à percer des noyaux et a constaté que la substance nucléaire se mélangeait au cytoplasme en présentant des zones de diffusion.

D'après la théorie du noyau homogène, les chromosomes ne conserveraient donc pas leur individualité dans le noyau quiescent et résulteraient à la prophase d'une précipitation de la substance nucléaire. Aussi cette opinion a-t-elle été invoquée contre la théorie chromosomique de l'hérédité. Cependant, on peut admettre que la chromatine est une constante cellulaire et que, ce qui importe, ce n'est pas l'individualité des chromosomes, mais la persistance de la chromatine au même taux dans le noyau au repos, ce qui fait que la théorie chromosomique de l'hérédité conserverait son intégrité même si le noyau quiescent était reconnu homogène.

L'étude du noyau à l'éclairage au fond noir est susceptible de fournir quelques renseignements sur cette question. Mais jusqu'à présent on n'est pas fixé sur l'état colloïdal du noyau. Certains auteurs considèrent le noyau comme formé par un

hydrogel, un peu plus visqueux que l'hydrogel cytoplasmique ; d'autres lui attribuent la nature d'un hydrosol. On ne possède, sur ce sujet, que quelques observations de Gaidukov, de Fauré-Frémiet, Aggazzotti, Marinesco, R. Price, L. Lapicque. D'après Fauré-Frémiet, qui a observé les Infusoires et quelques cellules de Métazoaires, le noyau présente tous les états intermédiaires entre une opalescence à peine visible et un granulum assez dense, sans mouvements browniens ; quand au nucléole, il est optiquement vide. D'après Aggazzotti, dans les globules sanguins de *Spelerpes*, et d'après Marinesco, dans les cellules nerveuses, il serait optiquement vide comme le cytoplasme. Lapicque, dans les cellules végétales, le décrit comme présentant souvent une certaine opalescence, mais, dans une note récente, il admet que celle-ci serait due à une altération et se prononce en faveur de la théorie du noyau homogène.

Afin d'apporter quelques éclaircissements à cette importante question, nous ne nous sommes pas borné à une étude ultramicroscopique du noyau, mais nous avons observé, à l'éclairage ordinaire, le noyau d'un grand nombre de cellules vivantes. L'observation vitale du noyau est malheureusement très délicate puisque Chambers a montré, comme nous l'avons vu, que le noyau est l'organe le plus fragile de la cellule. D'autre part, s'il est facile de s'assurer que les cellules que l'on observe sont encore vivantes par les courants dont le cytoplasme est le siège, on ne possède aucun criterium de l'intégrité des cellules, car on peut admettre que le noyau a déjà subi un début d'altération au moment où la cellule est encore en vie et continue à présenter des courants cytoplasmiques. Nous avons donc cherché à observer le noyau dans des conditions où il y ait le moins de risque possible d'altération. Nous avons choisi de préférence des cellules des feuilles d'*Elodea canadensis* qu'on peut examiner par transparence sans aucune manipulation et dans leur milieu naturel puisque la plante est adaptée au milieu aquatique. Nous avons observé également d'une manière particulière les bractées membraneuses qui enveloppent les jeunes fleurs d'*Iris germanica* dont les cellules épidermiques peuvent également être observées par transparence et sont protégées par leur cuticule. Ce matériel très favorable nous a

permis de constater que le noyau apparaît formé par une substance légèrement plus réfringente que le cytoplasme, d'apparence plus dense, mais presque homogène, dans laquelle on aperçoit seulement le nucléole d'une réfringence plus marquée. Dans les bractées d'*Iris germanica*, nous avons pu constater tous les intermédiaires entre des noyaux d'aspect à peu près homogène et des noyaux à structure réticulée. Les noyaux homogènes se trouvaient dans les régions les plus éloignées de la région où la bractée avait été sectionnée et dans celles, par conséquent, qui paraissaient avoir conservé leur intégrité ; mais, à mesure qu'on se rapprochait de la section, ces noyaux prenaient un aspect confusément granuleux, plus ou moins marqué, et, dans les cellules situées directement au contact de la lésion, les noyaux se montraient plus réfringents et constitués par un réseau semblable à celui qu'on observe après fixation. Dans les épidermes des feuilles et des fleurs de la même espèce, le noyau s'est présenté toujours à peu près homogène dans les cellules bien conservées, et ce n'est que dans les régions où les cellules montraient des signes d'altération que cet aspect homogène faisait place d'abord à une structure confusément granuleuse, puis à la structure réticulaire.

Par contre, dans les cellules épidermiques des pétales de fleurs de Tulipe, qui sont très fragiles, le noyau nous est toujours apparu avec une structure nettement granuleuse qui s'accentuait dans les cellules en voie d'altération. Cette même structure a été retrouvée même dans les épidermes que l'on avait détachés avec l'assise sous-épidermique du mésophylle et qui ne présentaient pas le moindre signe d'altération de leurs plastes et de leurs mitochondries. Elle a toujours été très nettement observée aussi dans les cellules épidermiques des feuilles de Tulipe qui sont beaucoup plus résistantes et qu'on peut conserver longtemps à l'état de vie dans le liquide de Ringer (1). Dans ces cellules qui offraient des courants cytoplasmiques très intenses et ne montraient aucun signe d'altération

(1) Martens a soutenu dernièrement que le liquide de Ringer accentue la structure du noyau ; nous n'avons, pour notre part, jamais constaté ce fait. Le liquide de Ringer que l'on peut d'ailleurs modifier en y ajoutant du saccharose, nous a toujours donné d'excellents résultats.

de leurs plastes et de leurs mitochondries, le noyau présentait toujours une structure granuleuse très nette. Ces noyaux ne montraient que très rarement leur nucléole, celui-ci étant masqué par les granulations de la substance nucléaire de même réfringence. Cette structure a été observée d'ailleurs dans les noyaux de l'épiderme des parties marginales minces des feuilles observées directement sans être détachées de la plante et par conséquent dans des conditions où ne peuvent intervenir

Fig. 11. — A et B, Noyaux des cellules de l'épiderme du bulbe d'*Allium Cepa* avec leur structure finement granulaire (sur le vivant). C, noyau coagulé d'une cellule altérée, avec structure réticulaire. D et E, Noyaux d'aspect homogène de cellules des feuilles d'*Elodea canadensis*. F, Noyau de la même feuille, mais altéré et avec structure réticulaire (Grossissement : environ 1.500).

aucune altération. Mais nulle part, cette structure granuleuse du noyau n'a été observée d'une manière aussi précise que dans les cellules épidermiques des écailles du bulbe d'*Allium Cepa*. Dans ces cellules, tous les noyaux apparaissent constitués par une agglomération d'innombrables petits grains très réfringents et serrés les uns contre les autres ; les nucléoles, au nombre de plusieurs par noyaux, présentaient l'aspect de sphères peu réfringentes au sein de la substance granuleuse (fig. 11). Cette structure apparaissait dans des cellules parfaitement vivantes, n'offrant pas le moindre signe

d'altération. Nous l'avons retrouvée également dans les cellules occupant les parties marginales très minces des jeunes feuilles du bourgeon et observées directement sans manipulation. Elle s'est montrée absolument constante dans un nombre considérable d'observations.

Bien que dans beaucoup de cellules le noyau paraisse presque homogène, nos observations sur les cellules épidermiques de Tulipe et d'*Allium Cepa* semblent donc confirmer celles de DE LITARDIÈRE et de MARTENS et démontrer l'existence, dans le noyau, d'une structure granuleuse. Par contre, rien ne prouve, contrairement à l'opinion de ces auteurs, que les granules constituant cette structure soient réunis en un réseau et la structure réticulaire n'apparaît que dans les cellules manifestement altérées.

Le microscope à fond noir exigeant des préparations très minces ne permet d'observer les cellules des feuilles d'*Elodea canadensis* et des bractées d'*Iris germanica* que dans les régions marginales. Dans ces parties, le noyau nous est parfois apparu optiquement vide dans les feuilles d'*Elodea*, sa membrane seule étant éclairée : ce qui confirme les observations de R. PRICE; d'autrefois il montrait une faible opalescence. Par contre, dans les parties marginales des bractées d'*Iris germanica*, ainsi que dans tous les autres cas : cellules épidermiques des feuilles d'*Iris germanica*, cellules épidermiques des pétales et des feuilles de Tulipe, cellules épidermiques d'*Allium Cepa*, le noyau a présenté toujours une opalescence plus ou moins marquée, mais très nette, et parfois une structure granuleuse, même dans les cellules qui paraissaient parfaitement intègres et qui manifestaient des courants cytoplasmiques intenses. Quant au nucléole, lorsqu'il se distinguait, il apparaissait toujours optiquement vide au milieu de la substance nucléaire opalescente, comme les nucléoles des Infusoires figurés par FAURÉ-FRÉMIET. L'opalescence du noyau s'accentue beaucoup quand les cellules commencent à s'altérer et, dans les cellules mortes, le noyau coagulé apparaît contracté et avec un aspect granuleux et beaucoup plus fortement lumineux que le cytoplasme. L'introduction d'acides dans les préparations détermine la coagulation immédiate des noyaux qui deviennent fortement

lumineux ; au contraire, les alcalis (solutions d'ammoniaque ou de potasse) ne modifient pas le noyau, même lorsqu'il est optiquement vide. A une certaine concentration cependant, les alcalis homogénéisent les noyaux opalescents et les font apparaître optiquement vides. Le noyau ne se comporte donc pas, à ce point de vue, d'une manière très différente du cytoplasme.

Dans les Algues et les Champignons cependant le noyau n'est généralement pas visible au fond noir. Il ne nous a jamais été possible de le distinguer dans les Spirogyres et dans les *Cladophora*, pas plus que dans les Levures. Dans l'*Oidium lactis* et dans le *Saprolegnia*, les noyaux qui se voient assez bien à l'éclairage ordinaire, ne se distinguent au fond noir que très rarement, dans les cellules âgées occupées par de grosses vacuoles et où ils font saillie dans la vacuole ; ils apparaissent alors comme une évagination de la paroi vacuolaire et toujours optiquement vides.

Ainsi, les résultats que nous avons obtenus, aussi bien par l'observation du noyau au microscope ordinaire qu'à l'ultramicroscope, ne nous permettent pas de nous prononcer d'une manière définitive sur la question de la structure du noyau. Les noyaux observés à l'éclairage ordinaire apparaissent, selon les espèces, tantôt sous forme d'un corps presque homogène avec un nucléole plus réfringent, tantôt avec une structure granuleuse, parfois très nette. A l'ultramicroscope, ils sont parfois optiquement vides ou à peine opalescents, mais, presque toujours dans les cellules des Végétaux supérieurs, ils offrent une opalescence très marquée qui indique une structure hétérogène. Sans insister, pour le moment, sur cette question que nous reprendrons plus tard et sans essayer de définir l'état colloïdal du noyau, nous pouvons donc conclure que l'ensemble de nos observations parait favorable à l'opinion de Martens : c'est-à-dire à la théorie du noyau structuré.

B. — Cytoplasme.

Pour ce qui concerne le cytoplasme, nous nous trouvons également en présence de deux opinions tout à fait divergentes. L'une, soutenue par Gaidukov, Russo, Price et Leblond qui consi-

dèrent le cytoplasme de la cellule végétale comme un hydrosol avec micelles visibles, l'autre adoptée par L. Lapicque et ses élèves, Paul Becquerel, qui admettent que le cytoplasme de la cellule végétale se trouve dans le même état physique que celui de la cellule animale, qu'il est à l'état d'hydrogel fluide au sens de A. Mayer et Schæffer ou de gliode, suivant l'expression créée par Bottazzi, c'est-à-dire qu'il est optiquement vide et que les granulations qu'il renferme n'appartiennent pas au cytoplasme lui-même, mais représentent des produits du métabolisme ou des mitochondries. Entre ces deux opinions adverses se place Pensa qui constate, dans la plupart des cellules végétales, un cytoplasme vacuolisé, toujours plus ou moins fortement lumineux, et qu'il considère comme formé d'une émulsion d'eau dans une substance qu'il hésite à placer parmi les hydrosols ou les hydrogels. Ajoutons d'ailleurs que Pensa, comme Price et Leblond, admettent que l'état physique du cytoplasme peut se modifier, selon les conditions fonctionnelles de la cellule, et passer de l'état d'hydrogel à celui d'hydrosol et inversement.

Il règne donc, comme on le voit, la plus grande confusion sur cette question cependant très importante. Cela tient à deux causes. Tout d'abord, les observations vitales sont très malaisées, étant donnée l'extrême fragilité du système colloïdal que représente le cytoplasme, et la difficulté qu'on éprouve à préserver la cellule vivante de toute altération pendant l'examen. Ensuite, la plupart des auteurs qui ont abordé la question ont fait abstraction de toutes les données récentes et cependant très importantes apportées dans ces dernières années par la cytologie. Ils n'ont même pas pris le soin de comparer la structure de la cellule qu'ils observaient au fond noir avec celle qui apparaît à l'éclairage ordinaire. Ils ont confondu ainsi, sous le terme de cytoplasme, la substance fondamentale homogène qui représente le cytoplasme lui-même, les constituants morphologiques permanents du cytoplasme, c'est-à-dire le chondriome (y compris les plastes), le vacuome et les granulations lipoïdes que l'en rencontre dans la plupart des cellules végétales, dont l'ensemble constitue, avec le noyau, un système colloïdal polyphasique. C'est ainsi qu'aucun d'eux, à l'exception

de Price, de P. Becquerel, de Pensa et de Lapicque, n'a cherché comment se comportent, au fond noir, les mitochondries et les plastes, et encore ces derniers auteurs n'ont-ils abordé la question que tout à fait accessoirement. Il y avait donc lieu de reprendre la question d'une manière entièrement différente, en s'inspirant des données établies par les cytologistes et en distinguant le cytoplasme proprement dit des éléments qu'il renferme en suspension : mitochondries, plastes, vacuoles et granulations lipoïdes, c'est-à-dire en tenant compte de son organisation.

Nos recherches nous ont amené à confirmer les idées soutenues par L. Lapicque et son école, ainsi que par P. Becquerel et à démontrer que le cytoplasme de la cellule végétale apparaît toujours optiquement vide au fond noir et doit être regardé comme un hydrogel fluide au sens de A. Mayer et Schæffer ou un gliode (Bottazzi). L'étude des Champignons et surtout des Levures, que l'on peut observer dans leur milieu naturel, sans aucun risque d'altération, et qui permettent de réaliser des préparations très minces, en apporte une démonstration schématique. Nous avons vu, en effet, que dans toutes les Levures, le cytoplasme est optiquement vide, de même que les vacuoles qui se confondent le plus souvent avec le cytoplasme et qu'il n'y a de lumineux que des granulations lipoïdes immobiles qui sont visibles à l'éclairage ordinaire. Si l'on introduit, dans la préparation, une goutte d'une solution d'acide acétique ou de l'alcool, on constate que le cytoplasme se trouble immédiatement et que toutes les cellules montrent bientôt un contenu formé de gros grains, serrés les uns contre les autres, qui donnent au cytoplasme un aspect fortement lumineux (phase des nébuleuses résolubles de A. Mayer et Schæffer, aspect neigeux de Lapicque) que l'on retrouve dans les cellules fixées. Si la solution d'acide acétique est très diluée, cet aspect est précédé d'une phase où le cytoplasme devient faiblement opalescent (aspect laiteux) et qui correspond à la phase des nébuleuses non résolubles (A. Mayer et Schæffer). Les alcalis (solution de soude ou d'ammoniaque), au contraire, ne produisent pas cet aspect, n'altèrent pas l'homogénéité du cytoplasme. Le cytoplasme se

comporte donc comme un hydrogel électronégatif, ainsi que l'admettent A. Mayer et Schæffer.

L'étude des cellules épidermiques de diverses Monocotylédones observées avec précaution dans des conditions où elles ne s'altèrent pas, révèle également un cytoplasme toujours optiquement vide dans lequel on ne distingue que des granulations entraînées par les courants cytoplasmiques qui correspondent aux granulations de lipoïdes ou à des essences et que l'on rencontre dans la plupart des cellules, sinon dans toutes. Ces granulations qui sont assimilables aux microsomes des auteurs et qui, en raison de leur réfringence très accusée, sont les éléments les plus visibles à l'éclairage ordinaire, apparaissent encore plus distinctes à l'éclairage au fond noir. Elles se présentent sous forme de grains, de dimensions légèrement variables, parfaitement sphériques (boules de billard), fortement éclairées et l'on peut suivre, avec une admirable netteté, leurs déplacements rapides dans les trabécules cytoplasmiques invisibles, mais dont l'emplacement est indiqué par la direction qu'ils suivent. Les mitochondries et les plastes, chloroplastes et chromoplastes exceptés, sont au contraire, comme nous le verrons, presque invisibles.

Le premier signe de l'altération des cellules se traduit, comme l'a montré P. Becquerel, par l'arrêt brusque des courants cytoplasmiques ; le déplacement des granulations lipoïdes sous l'action des courants, se trouve donc brusquement arrêté, mais est remplacé par un mouvement brownien. Ensuite le mouvement brownien cesse à son tour et le cytoplasme se remplit de petites granulations confuses (stade des nébuleuses non résolubles), puis se transforme en un coagulum constitué par de nombreux grains serrés les uns contre les autres parmi lesquels il n'est plus possible de distinguer les granulations lipoïdes et qui donne au cytoplasme tout entier un aspect caractéristique, confusément granuleux et fortement lumineux (stade des nébuleuses réductibles ou aspect neigeux). L'action des acides et de l'alcool provoquent le même aspect, tandis que les alcalis conservent l'homogénéité du cytoplasme.

C. — Mitochondries et plastes.

Les mitochondries et les plastes n'ont presque pas été étudiés au fond noir. Dans les cellules animales, ils n'ont été l'objet que de courtes observations de Fauré-Frémiet qui, dans les Infusoires et dans les cellules sexuelles de quelques Métazoaires, les figure, dans des cas favorables, comme de petites taches nébuleuses à peine perceptibles. Dans les cellules végétales, Pensa, qui a cherché à retrouver, au fond noir, les mitochondries qu'il figure à l'éclairage ordinaire comme des éléments d'une très faible réfringence, n'a jamais pu y parvenir. Cependant, l'auteur figure, dans les cellules épidermiques des pétales de la fleur de Glaïeul, des leucoplastes assez gros, en forme de fuseaux, qui apparaissent optiquement vides, avec un contour seul éclairé au sein d'un cytoplasme assez fortement lumineux, mais ces éléments que nous avons étudiés dans nos recherches antérieures correspondent à des chondriocontes transformés en chromoplastes et dans lesquels se sont déposés, à la périphérie, des cristaux de carotine en forme de longues aiguilles. P. Becquerel, dans un très court rapport, indique qu'il a pu observer au fond noir, dans les cellules épidermiques d'*Allium Cepa*, des chondriocontes muqueux, lentement entraînés par les courants cytoplasmiques en se déformant sans cesse. Il signale ce fait que ces chondriocontes ne sont visibles qu'à un très fort grossissement et seulement dans les cellules épidermiques des écailles périphériques les plus âgées. Ajoutons, enfin, que R. Price et Lapicque décrivent le chromatophore des Spirogyres comme optiquement vide et visible seulement par sa couleur verte. D'après ces auteurs, il serait constitué par un hydrogel.

Nos observations démontrent que les mitochondries ne sont ordinairement pas visibles au fond noir et que, dans les cas très rares où il est possible de les distinguer, elles n'apparaissent que par leur contour très faiblement lumineux et à peine visible. Dans la très grande majorité des cas, il n'y a d'éclairé que les granulations lipoïdes dont nous venons de parler. Les mitochondries, en effet, ne montrent, à l'éclairage ordinaire, qu'une très faible différence de réfringence avec le cytoplasme et l'on comprend facilement qu'elles ne diffractent pas la lumière

et ne soient pas visibles à l'éclairage au fond noir. Les plastes qui ont exactement la même réfringence et qui ne sont, comme nos recherches l'ont montré, qu'une catégorie spéciale de mitochondries et ne se distinguent vraiment des mitochondries proprement dites que lorsqu'ils renferment de la chlorophylle, ne sont pas plus facilement visibles au fond noir, sauf quand ils sont transformés en chloroplastes.

Dans la plupart des Champignons, les mitochondries ne sont que très difficilement visibles à l'éclairage ordinaire et il est naturel qu'elles ne s'aperçoivent pas au fond noir. Mais dans les *Saprolegnia* où elles se distinguent, au contraire, à l'éclairage direct, avec une très grande netteté, ce n'est que dans certaines extrémités des filaments en voie de croissance, là où elles sont extrêmement nombreuses et serrées les unes contre les autres, qu'elles apparaissent parfois sous forme de petits éléments confus et d'une luminosité extrêmement faible dont il est impossible de définir la forme. Dans certains filaments plus âgés cependant, il nous a été possible d'observer, dans quelques cas très rares, des chondriocontes optiquement vides, mais visibles par leur contour faiblement lumineux, qui apparaissaient comme des boyaux à peine distincts et se déplaçant lentement.

Les cellules épidermiques des Monocotylédones nous fournissent la preuve manifeste que les mitochondries et les plastes ne sont en général pas visibles au fond noir. Nous avons vu, en effet, que dans les cellules épidermiques des feuilles de Tulipe, l'observation à l'éclairage ordinaire montre toujours, en dehors de nombreuses granulations lipoïdes très réfringentes et se déplaçant très rapidement, la présence, dans le cytoplasme, de petits leucoplastes fusiformes dérivés de chondriocontes typiques, et de nombreuses mitochondries présentant l'aspect de grains ou de bâtonnets. Ces deux catégories d'éléments, plastes et mitochondries, montrent la même réfringence très faible et se déplacent très lentement. Or, au fond noir, on ne voit absolument que les granulations lipoïdes qui apparaissent comme de petites boules fortement éclairées et se déplaçant très rapidement. Jamais, on ne distingue ni plastes ni mitochondries (fig. 12).

L'étude des cellules épidermiques des feuilles d'*Iris germanica* complète cette démonstration. Dans ces cellules, on observe, avec une grande netteté, des granulations lipoïdes, des plastes en forme de chondriocontes très allongés, et des mitochondries granuleuses. Or, dans certaines feuilles, les plastes, au lieu d'être à l'état de chondriocontes ordinaires, se présen-

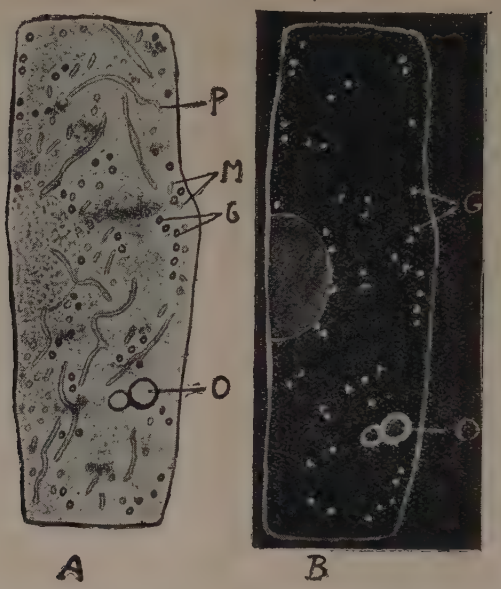


Fig. 12. — Cellules épidermiques d'une jeune feuille de Tulipe. A, à l'éclairage ordinaire. B, à l'éclairage au fond noir. P, Leucoplastes, à l'état de chondriocontes. M, Mitochondries. O, Oléoplaste. G, Granulations lipoïdes. L'éclairage au fond noir ne permet d'observer, dans le cytoplasme optiquement vide, que les granulations lipoïdes et l'oléoplaste (Grossissement : environ 1.000).

tent sous forme de filaments pourvus, sur leur trajet, de petits renflements remplis de granulations lipoïdes qui leur donnent des aspects de fuseaux ou d'haltères. Dès que la cellule commence à s'altérer, les granulations lipoïdes contenues dans l'intérieur de ces plastes offrent des mouvements browniens, puis les plastes se transforment en vésicules renfermant un contenu aqueux dans l'intérieur duquel s'agitent ces granulations. L'observation de ces cellules au fond noir ne montre que

les granulations lipoïdes du cytoplasme que l'on voit se déplacer sous l'influence des courants, tandis que les plastes et les mitochondries n'apparaissent pas. Cependant, dans certaines cellules, le fond noir révèle d'autres granulations de même aspect que les granulations lipoïdes du cytoplasme, mais qui sont agglomérées en petites masses ou disposées en série linéaire et que l'on voit s'agiter de mouvements browniens dans un espace très limité ; ces granulations correspondent à celles qui se trouvent localisées dans les plastes et permettent de reconnaître l'emplacement de ces derniers qui sont absolument invisibles.

Dans les cellules épidermiques des pétales de Tulipe les plastes, en forme de chondriocontes chargés de xanthophylle ou incolores, selon les variétés, sont presque toujours visibles à l'éclairage ordinaire. Ces éléments apparaissent toujours d'une manière très confuse, dans les cellules qui ne renferment pas de xanthophylle et ne deviennent vraiment distincts que lorsqu'ils sont imprégnés de ce pigment. Ils apparaissent alors avec une assez grande netteté.

Dans les cellules épidermiques de l'*Allium Cepa*, les mitochondries et les plastes ne sont le plus souvent pas visibles. Cependant, il nous a été possible, dans certains cas, de confirmer l'observation de P. Becquerel et d'observer, au fond noir, les mitochondries en forme de grains ou de bâtonnets et les plastes en forme de chondriocontes. Ces éléments ont été observés surtout dans les écailles périphériques les plus vieilles. Ils se présentaient sous forme de boyaux noirs et de sphères avec un contour seulement d'une luminosité extrêmement faible et tels que les a figurés Fauré-Frémiet dans diverses cellules animales.

On peut donc se demander dans quelles conditions les mitochondries et les plastes, éléments permanents du cytoplasme, toujours visibles à l'éclairage ordinaire (du moins dans les cellules épidermiques), mais presque toujours invisibles au fond noir, s'y montrent cependant parfois faiblement éclairés. Nous avions pensé d'abord que ces éléments ne devaient apparaître qu'au moment où les cellules commencent à s'altérer, mais cette opinion n'a pu être vérifiée. D'une part, en effet, les

mitochondries et les plastes apparaissent, au contraire, dans des cellules tout à fait vivantes dans lesquelles les mouvements cytoplasmiques sont très actifs et où l'on peut suivre les déplacements et les déformations des chondriocontes. D'autre part, dans les cellules où l'on ne distingue pas les mitochondries et les plastes, ceux-ci ne deviennent pas visibles au moment où les cellules commencent à présenter les premiers signes d'altération. On sait que dans les cellules vivantes observées à l'éclairage ordinaire et où les mitochondries et les plastes sont toujours visibles, ces éléments apparaissent plus ou moins distincts, selon l'état de plus ou moins grande viscosité du cytoplasme et selon l'épaisseur des cellules et les conditions d'éclairage. Il semble qu'il en soit de même pour les observations au fond noir et effectivement les plastes et les mitochondries ne sont visibles que dans les cellules très minces et là où elles sont le plus distinctes à l'éclairage ordinaire. Quant aux chloroplastes, nos observations montrent qu'ils se présentent toujours au fond noir comme des sphères optiquement vides que l'on ne distingue que par leur contour seul lumineux et leur couleur verte. Dans beaucoup de cellules même, ils ne sont que très difficilement visibles. C'est le cas, par exemple, des cellules de poils de Tabac où les chloroplastes sont très petits. Nous avons examiné, à ce point de vue, quelques Algues vertes où le chromatophore unique par cellule offre un développement considérable, comme chez les Spirogyres et les Cladophores. Le chromatophore s'est toujours montré optiquement vide et son contour apparaissait le plus souvent à peine marqué par une faible luminosité et dans certaines régions seulement ; seuls les grains d'amidon entourant les pyrénoïdes apparaissaient fortement éclairés.

En introduisant une goutte de solution d'acide acétique ou d'alcool dans une préparation de Spirogyres, nous avons constaté que le chromatophore prenait un aspect lumineux et une structure granuleuse. Le même résultat a été obtenu en traitant, de la même manière, une coupe du mésophylle d'*Iris germanica* ou une feuille d'*Elodea canadensis*. Le chromatophore des Spirogyres et les chloroplastes d'*Iris* et d'*Elodea*,

au contraire, se gonflent et restent homogènes en présence des alcalis.

D'autre part, les observations attentives que nous avons faites à l'éclairage ordinaire sur le chromatophore des Spirogyres et des Cladophores nous ont montré que cet organite apparaît toujours constitué par une substance homogène. Il semble en être de même pour les chloroplastes d'un certain nombre de Phanérogames que nous avons observées à ce point de vue. On sait d'ailleurs que les chloroplastes se présentent toujours absolument homogènes dans les préparations traitées par les techniques mitochondriales. Tout ceci nous amène donc à confirmer l'opinion que nous avions déjà formulée antérieurement, mais sans preuve suffisante à l'appui, que toutes les structures qui ont été décrites dans les chloroplastes ne sont que le résultat de l'action des fixateurs brutaux sur ces organites, et à penser que les chloroplastes doivent être constitués par un hydrogel. Cette opinion, formulée déjà, pour ce qui concerne le chromatophore des Spirogyres, par R. Price et L. Lapicque, confirmerait l'hypothèse déjà exprimée par Wurmser. Toutefois, nous avons constaté que les chloroplastes des feuilles d'*Elodea* et des feuilles d'*Iris germanica*, qui apparaissent toujours à l'éclairage au fond noir, comme optiquement vides, montrent parfois, lorsqu'on les observe à l'éclairage ordinaire et à un très fort grossissement, une apparence confusément granuleuse comme si la chlorophylle était répartie dans le substratum incolore du chloroplaste sous forme d'une infinité de petits grains à la limite de la visibilité. Il se pourrait donc que la chlorophylle soit parfois répartie sous forme de granulations très fines dans le substratum incolore du chloroplaste et de même réfringence que celui-ci : ce qui fait que l'ultramicroscope ne permettrait pas de les distinguer et que les chloroplastes apparaîtraient optiquement vides. Aussi, croyons-nous faire quelques réserves sur la structure des chloroplastes que, cependant, nous sommes enclins à considérer comme homogènes.

Un autre résultat intéressant qui se dégage de nos recherches est le fait que les mitochondries et les plastes, qui montrent les mêmes formes, la même réfringence et les mêmes

caractères histochimiques, se comportent exactement de même au fond noir : ce qui ajoute un argument de plus en faveur de l'opinion que nous avons émise que les plastes doivent être considérés comme une catégorie spéciale de mitochondries.

Les faits que nous avons observés semblent indiquer que les mitochondries et les plastes sont à l'état d'hydrogel ou de gliode cytoplasmique non miscibles avec l'hydrogel dont ils constituent une phase séparée.

D. — Vacuome.

Les vacuoles, qui n'ont été pour ainsi dire pas étudiées jusqu'ici à l'ultramicroscope, sont presque toujours optiquement vides et se confondent avec le cytoplasme. Dans les Levures, elles ne sont pas visibles dans la majorité des cellules, mais il est possible cependant de reconnaître leur emplacement par les granulations lipoïdes immobiles qui sont toujours exclusivement localisées autour d'elles, les entourant d'une sorte de couronne. Dans un petit nombre de cellules, les vacuoles montrent cependant à leur intérieur quelques corpuscules plus fortement éclairés encore que les granulations lipoïdes du cytoplasme et que l'on voit s'agiter de mouvements browniens dans le suc vacuolaire optiquement vide, mais ces granulations (corpuscules métachromatiques) ne sont pas de l'ordre des micelles et sont toujours visibles à l'éclairage ordinaire. Ce n'est que très rarement que les vacuoles apparaissent entourées d'un cercle lumineux. Dans les Champignons filamenteux (*Oidium lactis* et *Saprolegnia*), les vacuoles sont également le plus souvent visibles. Dans certains cas, cependant, elles ont un contour lumineux qui permet de les distinguer et qui montre alors le plus souvent des mouvements ondulatoires incessants qui témoignent sans doute d'une agitation du cytoplasme et peut-être d'échanges produits entre le cytoplasme et la vacuole. Leur contenu est presque toujours optiquement vide et ne montre que rarement des corpuscules métachromatiques vivement éclairés et animés de mouvements browniens. Dans certains filaments de l'*Oidium lactis* ou d'autres moisissures, ces corpuscules peuvent être cependant très nombreux.

Il n'est pas possible de distinguer les vacuoles dans les Spirogyres où celles-ci sont également toujours optiquement vides.

Il en est de même dans les cellules des Végétaux supérieurs et notamment dans les cellules épidermiques des Monocotylédones. Ici, les vacuoles sont toujours optiquement vides et il est impossible de les distinguer du cytoplasme. On ne voit que rarement, dans leur intérieur, quelques granulations vivement éclairées et animées de mouvements browniens que l'on peut retrouver à l'éclairage ordinaire. Dans quelques cas exceptionnels, il nous est arrivé cependant de distinguer les trabécules cytoplasmiques qui traversent la vacuole et dont le contour seul présentait une très faible luminosité. Dans les vacuoles des poils de Tabac, enfin, on observe de nombreux granules fortement éclairés et animés de mouvements browniens qui représentent de petits cristaux d'oxalate de calcium (cristaux en poussière). On y trouve également quelques gros cristaux de la même substance qui offrent aussi une vive luminosité.

Ainsi, les vacuoles ne sont généralement pas distinctes du cytoplasme et, comme ce dernier, apparaissent toujours optiquement vides. Elles renferment parfois des granulations animées de mouvements browniens, mais celles-ci sont toujours visibles à l'éclairage ordinaire.

Cependant, il est démontré, à la suite des travaux de Dangeard et des nôtres, que les vacuoles renferment toujours, à l'état de solution, des substances colloïdales de diverses natures. Les Levures et la plupart des Champignons contiennent toujours une substance dont la nature chimique est encore peu connue et que l'on a désignée sous le nom de métachromatine. Une coloration par le rouge neutre ou un autre colorant détermine immédiatement la précipitation de cette substance sous forme d'un grand nombre de corpuscules métachromatiques vivement colorés et animés de mouvements browniens dans les vacuoles. Il est facile d'observer au fond noir la production de ces corpuscules en introduisant, dans la préparation, une goutte de solution de rouge neutre ; on voit immédiatement se produire de nombreux corpuscules agités de mouvements browniens, visibles par leur coloration rouge et leur bord fortement

lumineux. Une fixation à l'alcool ou au formol détermine la même précipitation de la métachromatine sous forme de corpuscules que l'on peut ensuite colorer par le bleu de Crésyl qui leur donne une teinte métachromatique rougeâtre. Cette coloration révèle, dans les vacuoles, une quantité considérable de corpuscules métachromatiques.

Les Spirogyres renferment également, dans leurs vacuoles, une grande abondance de composés taniques à l'état de solution colloïdale qui, comme l'a montré pour la première fois Pfeffer, précipitent sous forme de nombreuses granulations qui forment, avec le colorant, une combinaison chimique et apparaissent fortement colorées. Dans toutes les cellules des Phanérogames, on retrouve également des substances colloïdales qui précipitent sous l'influence des colorants vitaux, mais celles-ci, difficiles à conserver, ne se retrouvent généralement pas après fixation, sauf quand elles sont constituées par des composés phénoliques.

Dans les cellules épidermiques des pétales de certaines variétés de Tulipe, la vacuole renferme un pigment anthocyanique rouge, à l'état de solution colloïdale, et cependant cette vacuole apparaît à l'ultramicroscope toujours optiquement vide et visible seulement par sa couleur.

On peut donc être surpris que le suc vacuolaire, que l'on sait renfermer toujours une solution plus ou moins diluée de colloïdes, ne se présente pas sous l'aspect d'un véritable hydrosol avec micelles visibles. On est donc obligé d'admettre que les substances colloïdales qui forment, dans la vacuole, une véritable solution colloïdale possèdent des micelles trop petites pour être visibles à l'ultramicroscope.

Il était intéressant d'observer comment se comportent les jeunes vacuoles semi-fluides et mitochondriformes qui marquent le début de l'apparition du vacuome. Dans l'*Oidium lactis*, celles-ci apparaissent parfois sous forme de petites sphères ou de filaments renflés, optiquement vides, avec un contour seul lumineux. Par contre, dans les Saprolegniacées, où les extrémités des filaments en voie de croissance sont occupées par un vacuome en forme de minces canalicules anastomosés en réseau, celui-ci est absolument invisible au

fond noir. Il ne se distingue que d'une manière très confuse par sa coloration lorsqu'on l'examine dans une préparation colorée vitalement par le rouge neutre.

L'observation ultramicroscopique des formes initiales et mitochondriformes du vacuome est fort difficile à réaliser dans les Phanérogames, étant donné que ce vacuome ne s'observe que dans des tissus plus ou moins épais que l'on est obligé de dilacérer. Cependant nous avons pu réaliser des observations ultramicroscopiques dans les dents des jeunes folioles de Rosier qui montrent un vacuome mitochondriforme tout à fait caractéristique et rempli de pigments anthocyaniques rouges. A l'ultramicroscope, les formes filamenteuses mitochondriformes du vacuome, de même que les stades de gonflement de celles-ci, et les vacuoles typiques, rondes et fluides, qui leur font suite, se sont toujours montrées optiquement vides, discernables par leur couleur et surtout par leur contenu faiblement lumineux. Il semble donc que l'on puisse conclure de ces observations que les jeunes vacuoles mitochondriformes sont constituées, comme les mitochondries, par un hydrogel non miscible avec l'hydrogel cytoplasmique et que les vacuoles liquides qui dérivent de leur hydratation constituent de véritables solutions colloïdales, à micelles non visibles, mais très facilement précipitables.

E. — Action des fixateurs.

Ajoutons que les observations que nous avons faites au fond noir sur des cellules fixées par divers fixateurs nous ont montré que tous les mélanges renfermant de l'alcool ou de l'acide acétique déterminent la production, dans le cytoplasme, d'une structure granulaire grossière se traduisant à l'ultramicroscope par l'agglomération de nombreux grains très lumineux donnant au cytoplasme et au noyau un aspect neigeux, tandis que seules les méthodes mitochondriales, et en particulier la méthode de Regaud (mélange de formol et de bichromate de potassium) qui semble la meilleure, déterminent une coagulation très fine avec granules à peine visibles ou une simple opalescence du cytoplasme. Ces méthodes paraissent, en même temps, celles

qui conservent le mieux le noyau qui apparaît toujours avec une luminosité beaucoup moins accentuée qu'avec les autres fixations. Ces mêmes méthodes conservent également les mitochondries et les plastes aussi fidèlement que possible dans la forme qu'ils possédaient sur le vivant. Elles réalisent donc, surtout la méthode de Regaud, un progrès réel dans la technique cytologique.

F. — Discussion des résultats de nos devanciers.

Il est facile maintenant d'expliquer toutes les interprétations erronées qui ont été proposées pour expliquer la constitution physique du cytoplasme. Elles proviennent, comme nous l'avons déjà montré, de ce que les auteurs ont abordé la question avec une ignorance complète des données apportées par la cytologie. Il va de soi que pour interpréter ce que l'on observe à l'ultramicroscope, il est absolument nécessaire de connaître la structure de la cellule telle qu'elle se présente à l'éclairage ordinaire ainsi que la nature chimique et la signification des éléments figurés qu'on y trouve. Sans cela, le microscope à éclairage au fond noir ne peut nous donner aucun renseignement sur l'état physique des cellules. On doit, par exemple, se garder de confondre avec le cytoplasme les formations paraplasmiques, comme l'a bien fait remarquer Bottazzi. Il faut donc, contrairement à ce qui a été fait jusqu'ici, aborder la question en cytologiste. Ce n'est que lorsqu'on sera d'accord sur la signification des faits observés que l'on pourra essayer des interprétations physico-chimiques. Si la cytologie ne peut plus progresser actuellement sans le concours de la chimie-physique, celle-ci ne saurait fournir de résultats utiles qu'à la condition de tenir compte des faits morphologiques de l'organisation cellulaire. D'autre part, les observations au fond noir sont extrêmement délicates et il est nécessaire d'éviter les altérations qui peuvent se produire au cours de l'observation et amener la mort des cellules.

Il est facile de se rendre compte, d'après ce que nous venons de voir, que les granulations animées de mouvements browniens décrites par Gaidukov, Russo et R. Price comme représentant un

hydrosol ne correspondent qu'à des corpuscules vacuolaires n'appartenant pas au cytoplasme ou à des granulations lipoïdes localisées dans le cytoplasme (microsomes) lesquelles, comme nous l'avons dit, présentent des mouvements browniens lorsque les cellules commencent à s'altérer. Ces granulations ne sont pas de l'ordre micellaire et sont visibles au microscope ordinaire. D'autre part, le simple examen des figures, d'ailleurs fort belles, de Pensa, nous montre que la plupart des cellules représentées par ce savant correspondent à des cellules profondément altérées ou souvent même déjà mortes. La forte luminosité du cytoplasme, son aspect neigeux, sont tout à fait caractéristiques de l'état de coagulation ; et d'ailleurs plusieurs figures montrent un cytoplasme déjà détaché de la paroi cellulosique, qui ne laisse aucun doute à ce sujet.

Quant à Leblond, il s'est borné à l'étude d'Algues dont la structure est toujours d'une interprétation difficile parce que les vacuoles s'y distinguent très mal du cytoplasme et que les mitochondries y sont rarement visibles sur le vivant. L'auteur a eu le tort de faire « table rase », comme il l'avoue lui-même, de toutes les données apportées par la cytologie et ce qu'il décrit comme « des granulations ne pouvant être autre chose que des mitochondries » n'ont précisément rien de commun avec ces éléments beaucoup plus difficiles à distinguer parce que d'une réfringence très faible et qu'il semble d'ailleurs n'avoir jamais observés. C'est simplement un mélange des granulations lipoïdes du cytoplasme, des éléments décrits par Lapicque sous le nom de paillettes scintillantes et de corpuscules intravacuolaires de natures diverses. L'hypothèse de Leblond, qui consiste à admettre que très fréquemment le cytoplasme se trouve à l'état d'hydrosol dont les micelles extraordinairement grosses seraient visibles à l'éclairage ordinaire et correspondraient aux mitochondries, n'a donc pas le moindre fondement.

L'un des résultats les plus importants des recherches de Leblond serait, comme on l'a vu, le passage de l'état de gel à l'état de sol réversible. Ce passage aurait été observé dans les Spirogyres. Sous l'influence de la caféine, le cytoplasme à l'état de gel serait immédiatement transformé en sol. Cette structure serait réversible et l'Algue replacée dans les conditions norma-

les, c'est-à-dire dans l'eau, reprendrait le caractère de gel. Huilleret, dans des observations plus exactes, était arrivé à des résultats assez semblables. Il avait montré que la caféine détermine, dans les Spirogyres, l'apparition de nombreux précipités dans l'intérieur de la vacuole, précipités déjà décrits par Löw et Bokorny sous le nom de protéosomes et auxquels Pfeffer avait donné une interprétation correcte. Mais Huilleret observe, en même temps, comme Leblond, la formation, dans le cytoplasme, de précipités et la transformation du gel cytoplasmique en hydrosol. En replaçant l'Algue dans les conditions normales, les précipités vacuolaires disparaîtraient et le cytoplasme reprendrait en même temps son aspect d'hydrogel. Mangenot, qui a repris ces recherches, a donné récemment l'explication de ce phénomène. La caféine, comme tous les alcaloïdes, détermine la précipitation immédiate du contenu colloïdal des vacuoles sous forme de nombreux corpuscules qui apparaissent, au fond noir, fortement lumineux et animés de mouvements browniens. Seulement, comme cela arrive souvent pour les précipités vacuolaires obtenus par le rouge neutre, ainsi que l'ont montré nos observations, ces corpuscules ont une tendance à s'accoler sur le bord du cytoplasme et à faire hernie dans celui-ci : ce qui a fait croire à Huilleret et à Leblond que le cytoplasme se transformait en hydrosol, alors qu'au contraire il demeure à l'état d'hydrogel. Mangenot a montré, en outre, que cette précipitation sous l'influence de la caféine ne se produit pas dans d'autres Algues voisines qui ne renferment pas de composés taniques dans leurs vacuoles. Elle est exclusivement en relation avec la présence de tanin dans les vacuoles. Ce sont les tanins qui précipitent, dans les vacuoles, sous l'action de la caféine et des autres alcaloïdes et cette précipitation peut être obtenue *in vitro* en ajoutant, à une solution de tanin, dans un tube à essai, un peu de caféine. C'est d'ailleurs une propriété connue du tanin que de précipiter avec les alcaloïdes : les tanins se combinent avec les alcaloïdes qui agissent comme des bases vis-à-vis d'eux. Comme on le voit tout s'éclaircit donc singulièrement.

Leblond aurait également remarqué la transformation du cytoplasme de l'état de gel à l'état de sol dans un *Achlya*, pen-

dant la formation des zoosporanges. Mais, d'après nos observations antérieures, on sait que, dans les filaments de Saprolegniacées destinés à se transformer en zoosporanges, il se produit une structure très complexe : on y trouve de nombreux noyaux, des mitochondries granuleuses également très abondantes et une accumulation de petites granulations lipoïdes de réserve qui remplissent presque tout le filament et gênent l'observation du chondriome et des noyaux (fig. 3). Le vacuome, en outre, se fragmente en un grand nombre de petites vacuoles à contenu colloïdal plus ou moins condensé. On s'explique, par cette structure très hétérogène, l'apparence que Leblond a prise pour un hydrosol.

Il resterait à savoir maintenant si le cytoplasme qui présente, dans tous les cas que nous avons observés, les caractères d'un hydrogel, est susceptible de passer, dans certaines conditions, à l'état d'hydrosol réversible. Nous n'avons aucune raison d'exclure la possibilité de cette transformation ; toutefois nos observations ne nous ont jamais permis de la constater (1) et l'on doit convenir que tous les faits qui ont été invoqués jusqu'ici en sa faveur reposent sur des interprétations erronées. Aussi, jusqu'à preuve du contraire, nous ne pouvons accepter cette possibilité que comme une simple hypothèse qui n'a reçu aucune vérification (2).

(1) Dans les Levures et dans l'*Oidium lactis*, nous avons constaté que le cytoplasme peut se transformer en s'altérant en hydrosol à micelles visibles et animées de mouvements browniens, mais, cette transformation est toujours suivie de la mort des cellules.

(2) Chambers et quelques auteurs Américains admettent, pour les cellules animales, la transformation réversible de l'état de sol en celui de gel, mais ce que les auteurs désignent sous le nom de sol correspond au gel fluide de Mayer et Schæffer et ce qu'ils entendent par gel répond au gel solide de ces derniers. C'est cette confusion de termes qui a fait attribuer à Chambers par certains auteurs mal informés la possibilité du passage du cytoplasme de l'état d'hydrosol à celui d'hydrogel réversible. L'état d'hydrosol, au sens de Mayer et Schæffer, n'a été observé par Chambers que dans des conditions anormales.

CONCLUSIONS

Les résultats qui se dégagent de nos recherches peuvent être résumés de la manière suivante :

1° Le noyau, toutes les fois qu'il est bien visible sur le vivant, c'est-à-dire dans les cellules des Phanérogames, montre, à l'éclairage ordinaire et à un fort grossissement, tous les intermédiaires entre l'aspect homogène et une structure finement granuleuse très nette. Il y a des types de cellules dans lesquelles le noyau apparaît homogène, d'autres cas où il est légèrement granuleux et d'autres enfin où il présente toujours un aspect granuleux bien caractérisé. Il montre presque toujours, à l'éclairage au fond noir, une opalescence plus ou moins marquée, souvent très nette. Sans vouloir nous prononcer définitivement sur la question de sa structure, nos observations nous amènent cependant à nous rallier à l'interprétation de Martens, c'est-à-dire à admettre l'existence, dans le noyau, d'une structure.

2° Le cytoplasme est toujours homogène à l'éclairage ordinaire et optiquement vide au fond noir. Il peut donc être considéré comme un hydrogel fluide, au sens de A. Mayer et Schæffer, ou un gliode, selon Bottazzi.

3° Les plastes et les mitochondries toujours visibles sur le vivant dans les cellules que nous avons observées (les Levures mises à part), quoique d'une réfringence très faible, n'apparaissent que très exceptionnellement à l'éclairage au fond noir. Lorsqu'ils sont visibles, ils se présentent sous forme d'éléments optiquement vides qui ne se distinguent que par une luminosité extrêmement faible de leur contour. Ils apparaissent tels que les a figurés Fauré-Frémiet dans certaines cellules animales. Les chloroplastes eux-mêmes sont peu distincts, parfois même à peine visibles, et se montrent toujours optiquement vides avec un contour seul plus ou moins lumineux.

4° Les vacuoles, cependant très visibles à l'éclairage ordinaire, sont elles-mêmes, à quelque phase qu'elles se trouvent, optiquement vides et ne se distinguent que très rarement au fond noir. Dans certains cas seulement, elles montrent un con-

tour lumineux qui les rend apparentes. Cependant, il est presque toujours possible, par comparaison des cellules à l'éclairage ordinaire et à l'éclairage au fond noir, de reconnaître leur emplacement. Parfois, elles renferment quelques granulations vivement éclairées et animées de mouvements browniens qui sont d'ailleurs visibles à l'éclairage ordinaire. Dans quelques cas exceptionnels, ces granulations sont très nombreuses. Enfin, certaines vacuoles renferment des cristaux d'oxalate de calcium, parfois en poussière de petits grains animés de mouvements browniens. Mais, le plus souvent, elles ne renferment aucune granulation visible. On sait cependant qu'elles contiennent toujours, et parfois en grande abondance, des colloïdes à l'état de solution que les colorants vitaux et les fixateurs précipitent, mais les micelles de ces colloïdes ne sont jamais visibles au fond noir. Il semble que les vacuoles sont à l'état d'hydrogel dans leurs phases mitochondriformes, puis se transforment, par suite d'une imbibition illimitée, en une véritable solution à micelles sans doute très petites et invisibles, mais facilement précipitables.

5° Il n'y a de lumineux, dans le cytoplasme, que des granulations sphériques montrant les caractères des lipoïdes ou parfois des essences que l'on trouve en plus ou moins grand nombre dans toutes les cellules. Ces granulations qui correspondent aux microsomes des auteurs (sphérome de Dangeard), selon l'état de fluidité plus ou moins grand du cytoplasme, peuvent être immobiles ou mobiles, mais, le plus souvent, elles sont entraînées avec une grande vitesse par les courants cytoplasmiques. Ces granulations sont les éléments les plus visibles à l'éclairage ordinaire, grâce à leur réfringence très accusée, et, à l'éclairage au fond noir, elles apparaissent encore plus distinctement et l'on peut suivre avec une netteté admirable leurs déplacements.

6° Les premiers signes de la coagulation du cytoplasme se manifestent par une augmentation de l'opalescence du noyau, puis par la cessation brusque des courants cytoplasmiques, lorsque ceux-ci existent, qui se traduit par l'arrêt des déplacements des granulations lipoïdes ; celles-ci présentent alors pendant quelque temps des mouvements browniens. En même

temps, on assiste fréquemment à la production, dans les vacuoles, de granulations animées de mouvements browniens. Bientôt après le cytoplasme prend un aspect opalescent et se remplit de petites granulations confuses (phase des nébuleuses non résolubles), puis se transforme entièrement en une masse constituée par d'innombrables grains parmi lesquels il n'est plus possible de distinguer les granulations lipoïdes et qui donnent au cytoplasme tout entier une forte luminosité (aspect neigeux) analogue à celle qu'offrent les cellules fixées (stade des nébuleuses réductibles). Le noyau prend le même aspect, mais plus lumineux et plus compact. Cette coagulation peut être obtenue presque instantanément, pour le cytoplasme comme pour le noyau, par l'addition à la préparation d'alcool ou d'acide acétique. Les alcalis (potasse, soude, ammoniaque), au contraire, ne modifient pas l'homogénéité du cytoplasme, ni celle du noyau, lorsque ce dernier est optiquement vide.

7° L'examen comparatif au fond noir des cellules traitées à l'aide de fixateurs très variés démontre que tous les fixateurs ordinaires renfermant de l'alcool ou de l'acide acétique déterminent une coagulation brutale du noyau et surtout du cytoplasme, se traduisant par une forte luminosité et un aspect neigeux. Les cellules traitées par les méthodes mitochondriales, et en particulier celle de Regaud, au contraire, montrent, non seulement à l'éclairage ordinaire leurs mitochondries et leurs plastes parfaitement conservés, mais encore présentent, au fond noir, une coagulation très discrète ne se manifestant que par une faible opalescence du cytoplasme : l'aspect du noyau ne paraît pas sensiblement modifié.

8° Nos recherches infirment les résultats de Gaidukov, Russo, R. Price, Pensa et Leblond; elles confirment, au contraire, ceux de L. Lapicque et de P. Becquerel et sont aussi tout à fait en accord avec les résultats obtenus par A. Mayer et Schæffer ainsi que par Fauré-Frémiet et quelques autres auteurs, dans les cellules animales.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Aggazzotti — Ricerche ultramicroscopiche sui globuli rossi di *Sperlerpes fuscus*. *Zeitschr. f. allg. Physiol.* 1910.

Albrecht. — Sur la structure du protoplasme. *XV^e Congrès int. Méd.* Lisbonne. *C. R. Anat.* 1906.

Becquerel (Paul). — Observations sur la nécrobiose du protoplasme végétal avec l'aide d'un nouveau réactif. *C. R. Ac. Sc.*, 1923.

— Rapport à la Caisse des recherches scientifiques sur l'étude ultramicroscopique du cytoplasme, 1925.

Bottazzi. — Das Cytoplasma und körpersafte. *Handbuch der vergleichende Physiologie*. Iena, G. Fischer.

Chambers. — The effect of experimental induced changes in consistency on protoplasmic movement. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1921.

— Studies on the organisation of the Starfish egg. *Journ. of Gen. Phys.*, 1921.

— Apparatus for micromanipulation and microinjection. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1921.

— A micromanipulator for the isolation of bacteria and the dissection. *Journ. of Bacteriology*, 1922.

— New apparatus and methods for the dissection and injection of living cells. *Anat. Record*, 1922.

Della Valle. — La morphologia della cromatina del punto di vita fisico. *Archivio zoologica*, 1913.

Fauré-Fremiet. — Sur l'étude ultramicroscopique de quelques Protozoaires. *C. R. Soc. biol.*, 1908.

— Etude physiologique sur la structure de noyaux du type granuleux. *C. R. Ac. Sc.*, 1909.

— Sur l'étude ultramicroscopique de quelques Protozoaires et les cellules sexuelles. *Arch. Anat. micr.*, 1910.

— La cinétique du développement. *Les Presses Univers.*, Paris, 1925.

Gaidukov. — Ueber die ultramikroscopischen Eigenschaften der Protoplasten. *Ber. d. Bot. Ges.* XXIV, p. 192.

— Ueber Untersuchungen mit Hilfe des Ultramikroscopes nach Siedentopf. *Ber. D. Bot. Ges.* 1906.

— Die Ultramikroscopie an Zellen. *Munch. Med. Wochenstr.*, 1907.

— Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroscopie in der *Biologie und Medizin, Jena*, 1910.

Greely. — Experiment on the physical structure of the Protoplasma of *Paramœcium*. *Biol. Bull.* 1904.

Guilliermond. — Observations vitales sur le chondriome des cellules végétales et recherches sur le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. *Rev. gén. Bot.*, 1919.

— Observations cytologiques sur le cytoplasme d'un *Saprolegnia*. *La Cellule*, 1920.

— Sur les éléments figurés du cytoplasme chez les Végétaux : chondriome, appareil vacuolaire et granulations lipoïdes. *Arch. Biol.*, 1921.

— Nouvelles observations cytologiques sur les Saprolegniacées. *La Cellule*, 1922.
— Nouvelles recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme. *Arch. Anat. micr.*, 1924.
— Recherches sur l'appareil de Golgi dans les cellules végétales et ses relations avec le vacuome. *Arch. Anat. micr.*, 1927.
— Observations des cellules végétales au fond noir. *C. R. Soc. Biol.*, 1929.
— Nouvelles recherches ultramicroscopiques sur les cellules végétales. *C. R. Soc. Biol.*, 1929.
Hober. — Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe. Leipzig, 1906.
Huilleret. — Les protéosomes de Lœw et la constitution du protoplasma. *C. R. Soc. Biol.*, 1928.
Jolly. — Recherches expérimentales sur la division indirecte des globules rouges. *Arch. Anat. micr.*, 1904.
Commandon et Jolly. — Démonstration cinématographique des phénomènes nucléaires de la division cellulaire. *C. R. Soc. Biol.*, 1913.
— Etude cinématographique de la division nucléaire. *Journ. Phys. Path. gén.*, 1913.
Kuster. — *Protoplasma*, 1924.
Lapicque (L.). — Sur les corpuscules qui montrent l'agitation cytoplasmique chez les Spirogyres. *C. R. Soc. Biol.*, 1922.
— Paillettes scintillantes dans le protoplasme des Spirogyres. *C. R. Soc. Biol.*, 1922.
— Les échanges des liquides. Cours de la Faculté des Sciences de Paris, rédigé par Cherbuliez. Gauthier-Villars, édit. 1926.
— Sur l'état physique des constituants cellulaires. *C. R. Soc. Biol.*, 1929.
— L'irritabilité protoplasmique. Cours de la Faculté des Sciences rédigé par Mlle Kohler, Guillon, édit. 1929.
Lapicque et Kergomard. — Changement dans la réaction de l'eau douce sous l'action des plantes aquatiques. *C. R. Soc. Biol.*
— Acidification par l'asphyxie chez les Spirogyres ; réactions morphologiques consécutives. *C. R. Soc. Biol.*, 1923.
Leblond (E.). — Le passage de l'état de gel à l'état de sol dans le cytoplasme vivant. *C. R. Soc. Biol.*, 1919.
— L'état de sol dans ses rapports avec l'activité fonctionnelle du protoplasma. *C. R. Soc. Biol.*, 1919.
— Recherches sur la morphologie et la cinétique de quelques biocolloïdes. *Bull. Biol. Franc. et Belg.*, 1928.
Lepeschkin. — Kolloidchemie des Protoplasmas. *Springer, Berlin*, 1924.
Lewis (R. et H.). — The duration of the various phases of mitosis in the mesenchyme. *Anat. Record*, 1917.
Levi (G.). — Nuovi studi su cellule coltivate in vitro. *Archivio Ital. Anat. Embr.* 1917-1918.
de Litardière. — Recherches sur l'élément chromosomique dans les caryocinèses somatiques des Filicinées. *La Cellule*, 1921.
Loeb. — Dynamique des phénomènes de la vie. Alcan, édit., Paris, 1906.
Lourau-Dessus (Mlle). — Quelques observations sur les mouvements protoplasmiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1928.
Macheboeuf. — Recherches sur les lipides, les stérols et les protéides au sérum et du plasma sanguin. *Thèse de Doctorat ès Sciences*. Sorbonne, 1928.

MASCRÉ. — Action de quelques fixateurs sur le noyau de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sciences*, 1927.
— Sur la fixation du chondriome de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 1927.
MEYER (ARTHUR). — Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. *G. Fischer*, 1926.
MANN. — Définition, structure et composition du protoplasma. 15e Congrès intern. Médec. Lisbonne, 1906.
MANGENOT. — Sur les constituants morphologiques du cytoplasme des Spirogyres. *C. R. Soc. Biol.*, 1929.
— Action de la caféine sur la cellule des Spirogyres. *C. R. Soc. Biol.*, 1929.
MARINESCO — Essai de Biocytoneurologie au moyen de l'ultramicroscope. *Iconographie de la Salpêtrière*, 1912.
— Rapport au troisième Congrès intern. Neurol. et Psychiatrie. Gand, 1913.
MARTENS. — Recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule*, 1917.
MAYER (A.) et SCHÆFFER. — Etudes ultramicroscopiques sur quelques colloïdes organiques. Deux états optiques des colloïdes organiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1908.
— Sur la structure des gels. Applications à l'étude de la constitution du protoplasma animal et des liquides de l'organisme. *C. R. Soc. Biol.*, 1908.
— Nouvelles recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule*, 1929.
MAYER (A.). — Remarques à propos de la Note de L. LAPICQUE. *C. R. Soc. Biol.*, 1929.
NOEL et MANGENOT. — Le formol fixateur nucléaire. *C. R. Soc. biol.*, 1922.
PENSA (A.). — Les questions les plus discutées sur le cytoplasme des végétaux. *C. R. Assoc. Anat. Turin*, 1925.
PRICE (R.-S.). — Studies on the structure of the plant cell by the method of dark ground illumination. *Ann. of Bot.*, 1914.
RUSSO. — De la signification des aspects que présentent à l'ultramicroscope les cellules vivantes ou mortes. *Arch. intern. de Physiol.*, 1910.
— Recherches ultramicroscopiques touchant à l'action des divers agents extérieurs sur les conditions de vie du protoplasma. *Arch. intern. de Physiol.*, 1910.
SCHÆDE. — Untersuchungen über Zelle, Kern und ihre Teilung auf lebenden Objekt. *Beitr. Biol. der Pflanzen*, 1925.
— Ueber die Strucktur des Ruhekernes. *Ber. d. D. Bot. Ges.*, 1926.
WURMSER (R.). — Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne. *Arch. de Phys. biol*, 1921.
YAMAHA. — Ueber die Lebenbeobachtung der Zellestrukturen nebst dem Artefaktproblem in Pflanzenzytologie. *Bot. Mag. Tokyo*, 1926.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE 8

Levures (Grossissement : environ 1.500).

Fig. 1 à 19. — Cellules de *Saccharomycodes Ludwigii* : 1 à 3, Cellules d'une culture, sur moût de bière, de 12 heures ; 4 à 16, Cellules d'une culture sur moût de bière de 24 heures. Dans les figures 4, 5, 7, 9, 12 et 16, apparaissent, en dehors des globules lipoïdes (G), qui entourent la vacuole, des corpuscules intravacuolaires (C) animés de mouvements browniens. Dans les figures 14, 15 et 16, les vacuoles sont visibles ; 17 à 19, cellules mortes.

Fig. 21 à 24. — Cellules de *Saccharomyces Pastorianus*, ne montrant que des granulations lipoïdes autour des vacuoles.

PLANCHE 9

Oidium lactis (Grossissement : environ 1.500).

Fig. 1 à 9 et 10. — Filaments d'*Oidium lactis* : N, noyau ; V, vacuoles ; G, globules lipoïdes. Les vacuoles de la figure 5 étaient animées de mouvements d'ondulation. Dans la figure 8, on voit, dans la vacuole, des corpuscules animés de mouvements browniens.

Fig. 11. — Champignon voisin du *Dematium pullulans*. Les vacuoles visibles renferment de nombreux corpuscules (C) animés de mouvements browniens.

PLANCHE 10

Saprolegnia **et cellule épidermique de feuilles de Tulipe.**
(Grossissement : environ 1.000).

Fig. 1 à 6. — Filaments de *Saprolegnia*. N, noyaux ; G, globules lipoïdes. Dans les figures 4 et 5, on aperçoit le chondriome : les chondriocontes (M) sont visibles par leur contour très faiblement lumineux.

Fig. 8. — Cellule épidermique de feuilles de *Tulipa suaveolens* : O, oléoplaste ; G, globules lipoïdes.

PLANCHE 11

Cellules épidermiques de feuilles de Tulipe (Grossissement : environ 1.000).

Fig. 1 et 2. — Cellules épidermiques des feuilles de *Tulipa suaveolens* : O, oléoplaste ; G, globules lipoïdes.
Fig. 3. — Fragment de cytoplasme d'une cellule semblable à un plus fort grossissement.

PLANCHE 12

Cellules épidermiques d'*Allium Cepa* (Grossissement : environ 1.000).

Fig. 1 et 2. — Cellules épidermiques des écailles du bulbe d'*Allium Cepa*. Dans la figure 1, on ne voit que les granulations lipoïdes (G*g*) ; dans la figure 2, les plastes (P) et mitochondries (M) sont visibles par leur contour très faiblement lumineux.
Fig. 3. — Fragment du cytoplasme d'une cellule semblable à un très fort grossissement (3.000). P, plastes ; M, mitochondries ; G*g*, globules lipoïdes.

PLANCHE 13

Cellules épidermiques d'*Allium Cepa* et poils de Tabac
(Grossissement : environ 1.500, sauf dans la figure 1).

Fig. 1. — Fragment du cytoplasme d'une cellule épidermique d'écaille d'*Allium Cepa*, à un très fort grossissement. P, plastes ; M, mitochondries ; G, granulations lipoïdes (Grossissement : environ 3.000).
Fig. 2. — Fragment d'une cellule épidermique d'écailles d'*Allium Cepa* dont le cytoplasme est coagulé.
Fig. 3 et 4. — Cellules d'un poil de feuille de Tabac. On y voit les chloroplastes (C*hl*), des cristaux d'oxalate de calcium (C*r*), des granulations intravacuolaires animées de mouvements browniens (P*v*) et des granulations lipoïdes (G).

PLANCHE 14

Cellules épidermiques de Tulipe et d'Iris.

Fig. 1. — Cellule épidermique de pétale de *Tulipa suaveolens*, variété blanche. Les plastes (chondriocontes) (P) sont visibles, mais d'une manière confuse sans qu'on puisse distinguer leurs formes ; O, oléoplaste (Grossiss. : environ 750).

Fig. 2. — Fragment du cytoplasme d'une cellule de la partie inférieure du pétale où les chondriocontes renferment de la xanthophylle et sont visibles par leur contour faiblement lumineux (Grossissement : environ 2.000).

Fig. 3. — Fragment de cytoplasme d'une cellule épidermique semblable à la précédente dans laquelle les chromoplastes sont en voie de gonflement et de vésiculisation (même grossissement).

Fig. 4. — Fragment de cytoplasme d'une variété rouge riche en pigments : les chromoplastes (chondriocontes) sont transformés en vésicules dont la paroi est remplie de granulations lipoïdes très éclairées et chargées de pigment (Grossissement : 1.000).

Fig. 5. — Cellule épidermique d'une feuille d'*Iris germanica*. Les plastes et les mitochondries ne sont pas visibles. On ne voit que les granulations lipoïdes (G) (Grossissement : environ 750).

Fig. 6. — Cellules épidermiques d'une feuille à un stade plus avancé : on voit, à côté de granulations lipoïdes G, entraînées par les courants cytoplasmiques, d'autres granulations de même nature qui sont immobiles et groupées en chaînettes : ce sont les granulations lipoïdes renfermées dans les leucoplastes invisibles (P).

Fig. 7. — Fragment de cytoplasme d'une cellule analogue, à un fort grossissement (environ 3.000). P, granulations lipoïdes incluses dans les leucoplastes ; G, granulations lipoïdes du cytoplasme.

PLANCHE 15

Cellules d'*Iris germanica* de Tulipe et d'*Elodea canadensis*.

Fig. 1. — Cellule épidermique d'une feuille d'*Iris germanica*, avec granulations lipoïdes (P) situées dans les leucoplastes non visibles et granulations lipoïdes cytoplasmiques (G) (Grossissement : environ 1.000).

Fig. 2 et 3. — Cellules épidermiques de feuilles d'*Iris germanica*, traitées par l'alcool, avec coagulation du cytoplasme et du noyau (même grossissement).

Fig. 4. — Cellule du mésophylle d'une feuille de Tulipe, montrant les chloroplastes (C*h*) optiquement vides et des granulations lipoïdes (G) (même grossissement).

Fig. 5. — Cellule de la feuille d'*Elodea canadensis* avec ses chloroplastes et ses granulations lipoïdes. Le noyau est presque optiquement vide (Grossissement : environ 1.500).

PLANCHE 16

Cellules d'*Elodea canadensis*, Protonoma de Mousses et Algues diverses.

Fig. 1 et 2. — Cellules de la feuille d'*Elodea canadensis* (Grossissement : environ 1.500). C, chloroplastes ; G, granulations lipoïdes.

Fig. 2. — *Idem*, fixée par le picroformol de Bouin.

Fig. 4 et 5. — Cellules du protonema d'une Mousse (Grossissement : environ 1.000). C*h*, chloroplaste; G, granulation lipoïde.
Fig. 6. — Cellule d'un *Cladophora*. C, Chromatophore; A, Amidon (Grossissement : environ 700).
Fig. 7. — Cellule d'une Spirogyre; C, Chromatophore; A, Amidon; P, Paillettes réfringentes de Lapicque (Grossissement : environ 700).

PLANCHE 17

Allium Cepa.

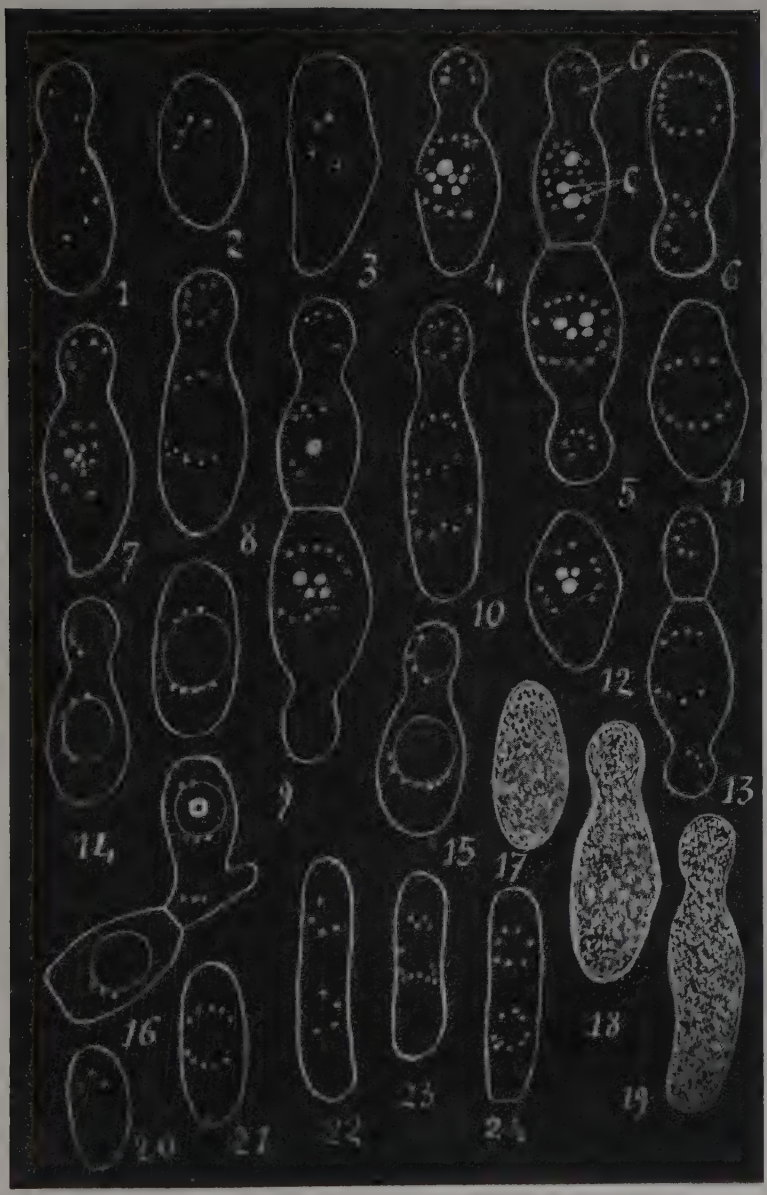
Fig. 1 à 4. — Cellules épidermiques des écailles du bulbe d'*Allium Cepa*. (méthode de Regaud). — P, Plastes; M, mitochondries (Grossissement : environ 1.000).

PLANCHE 18

Allium Cepa.

Fig. A à B. — Diverses formes de plastes (P) et de mitochondries (M) à un grossissement d'environ 1.500 (méthode de Regaud).

LAVAL. — IMPRIMERIE BARNÉOUD.

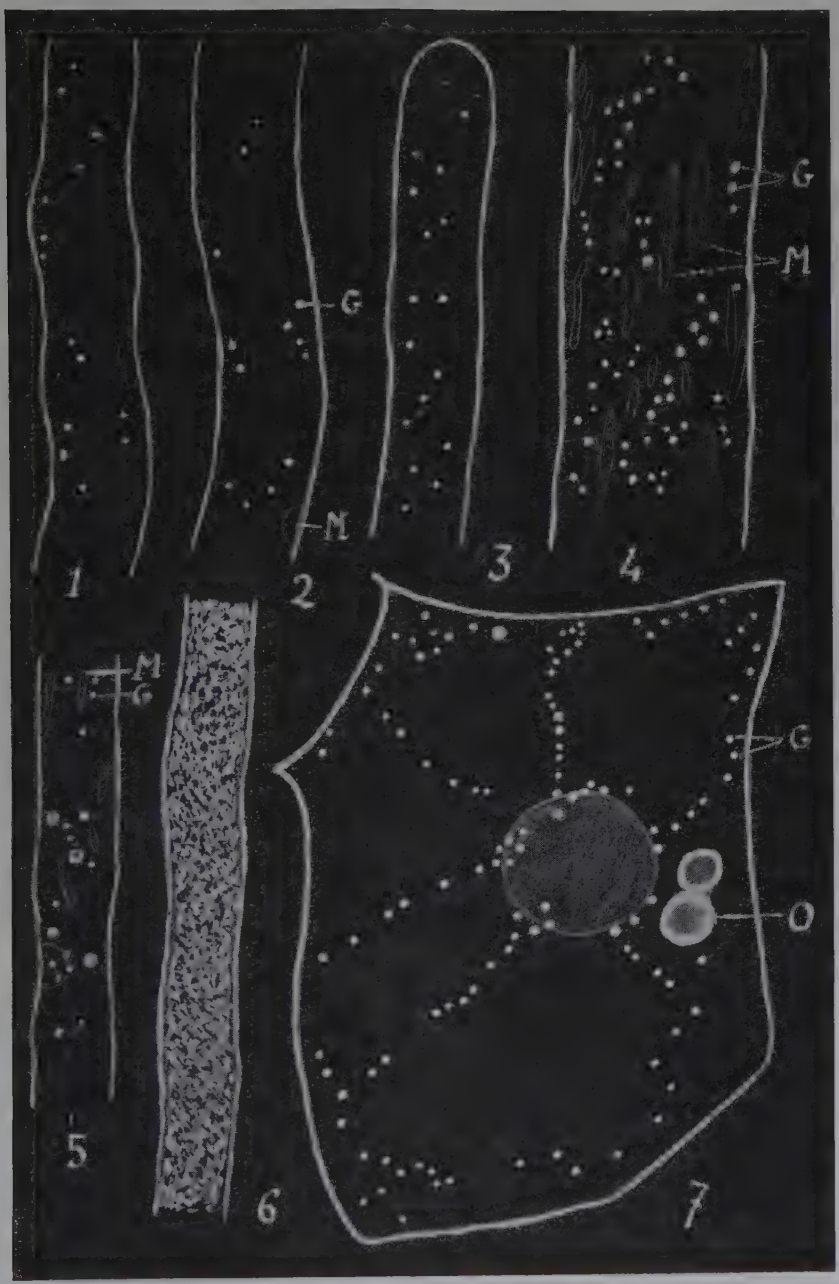


GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Saccharomycodes Ludwigii et *Saccharomycodes Pastorianus.*

GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Oidium Lactis.

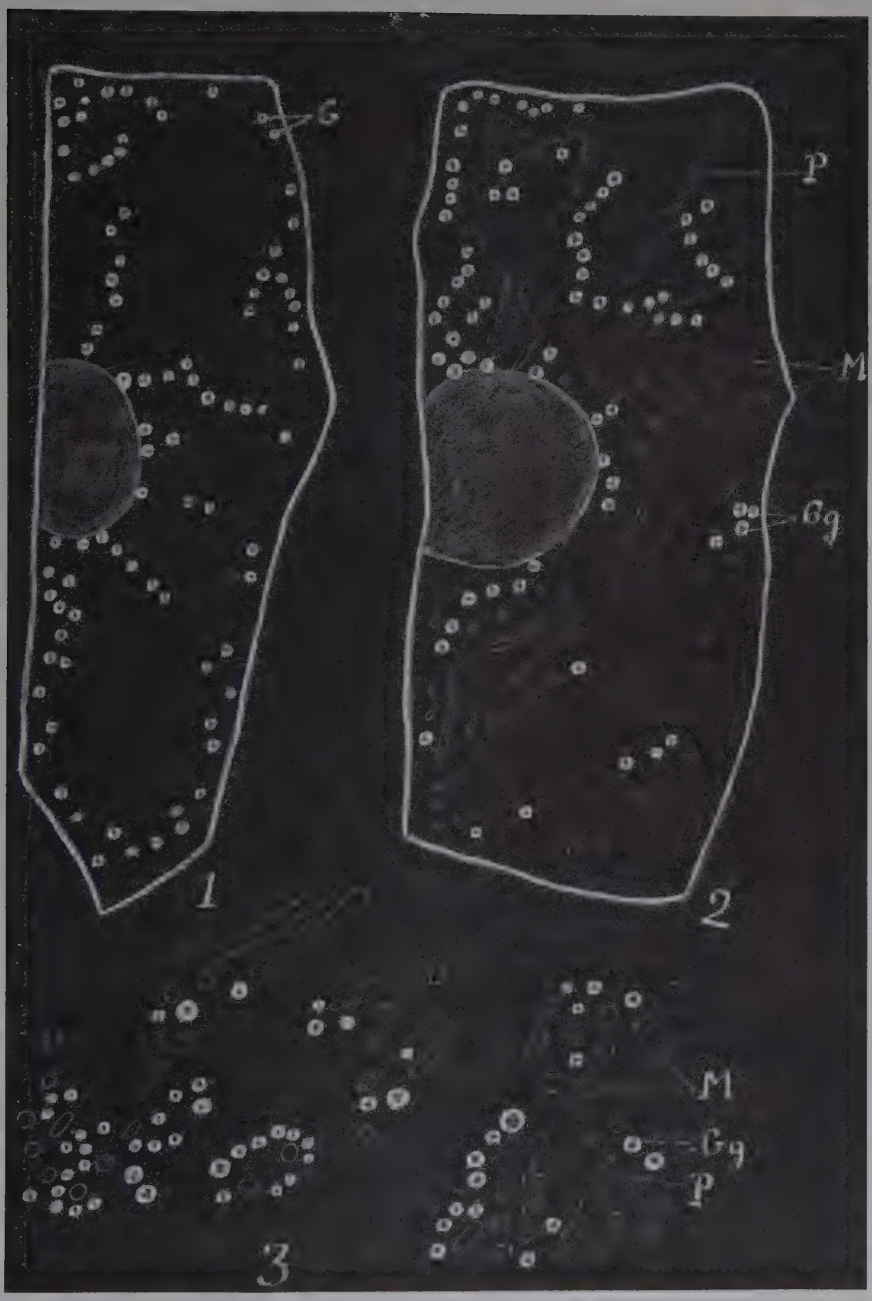


GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Saprolegnia et Tulipe.

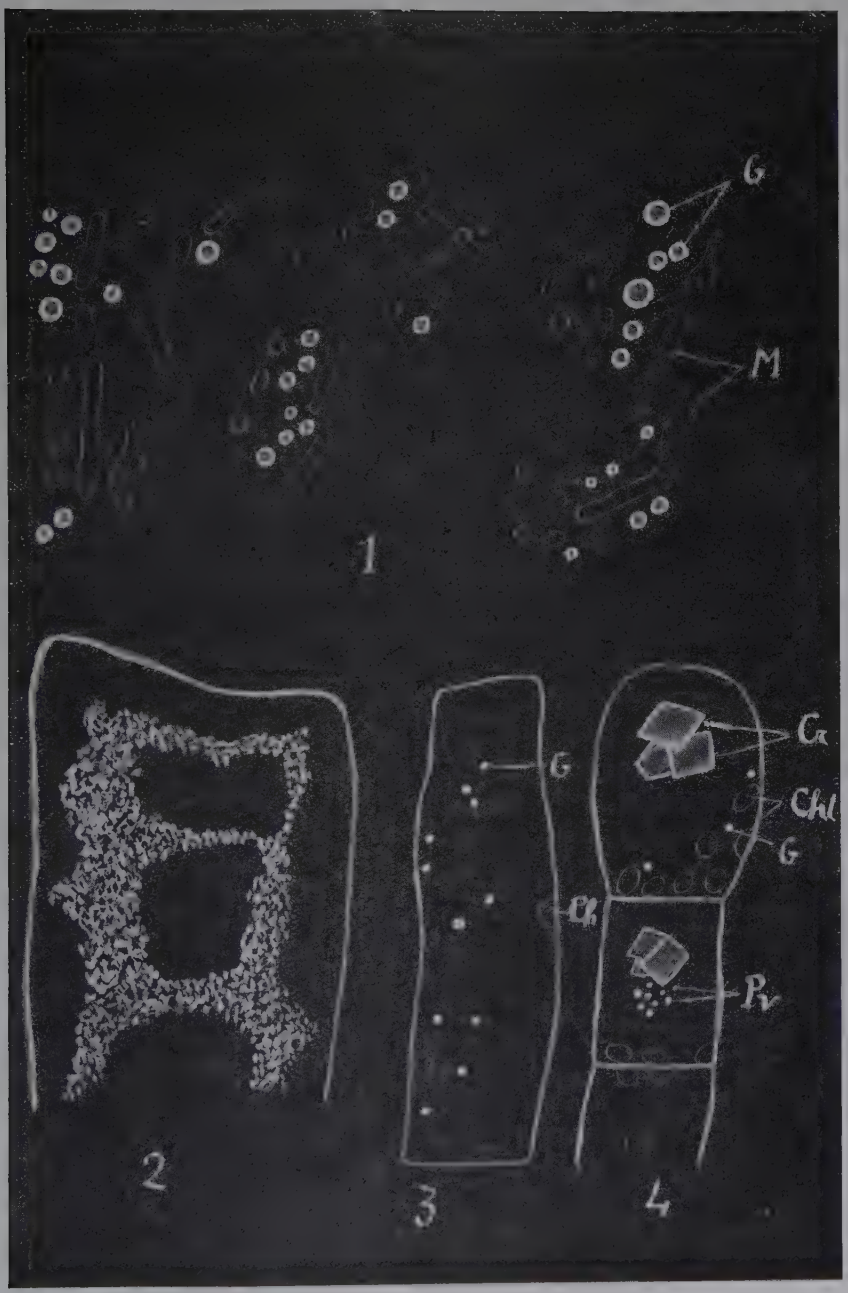
GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Allium Cepa.



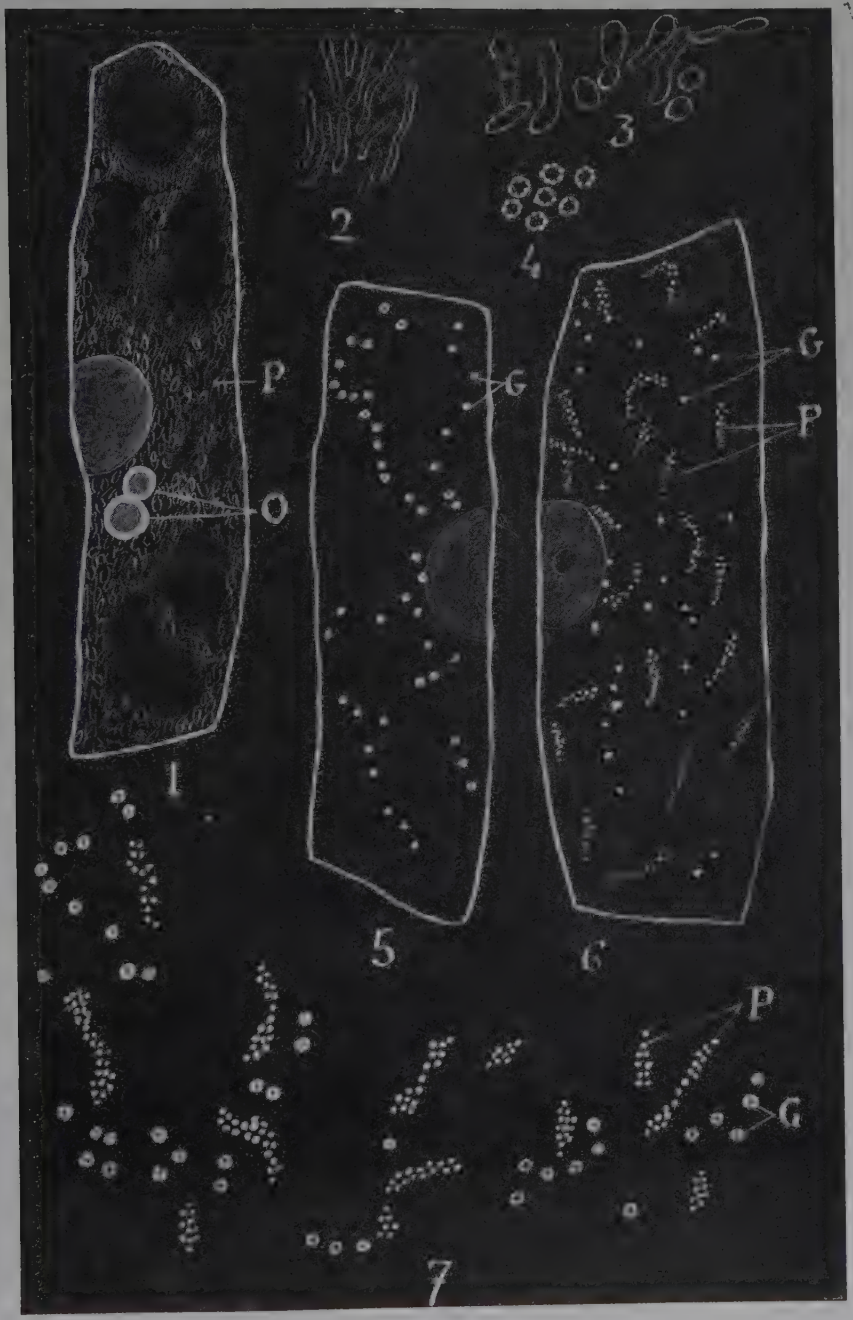
GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Allium Cepa.



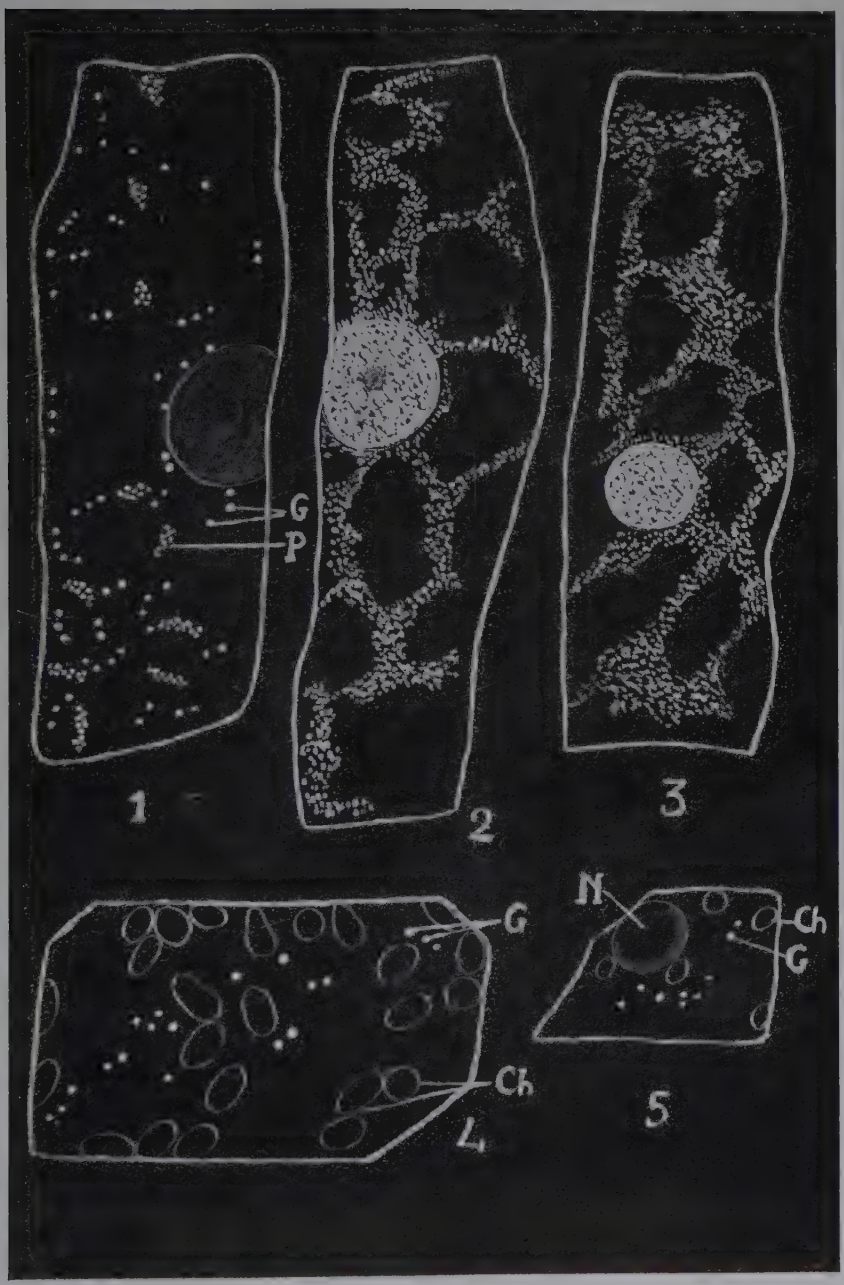
GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Allium Cepa et Tabac.



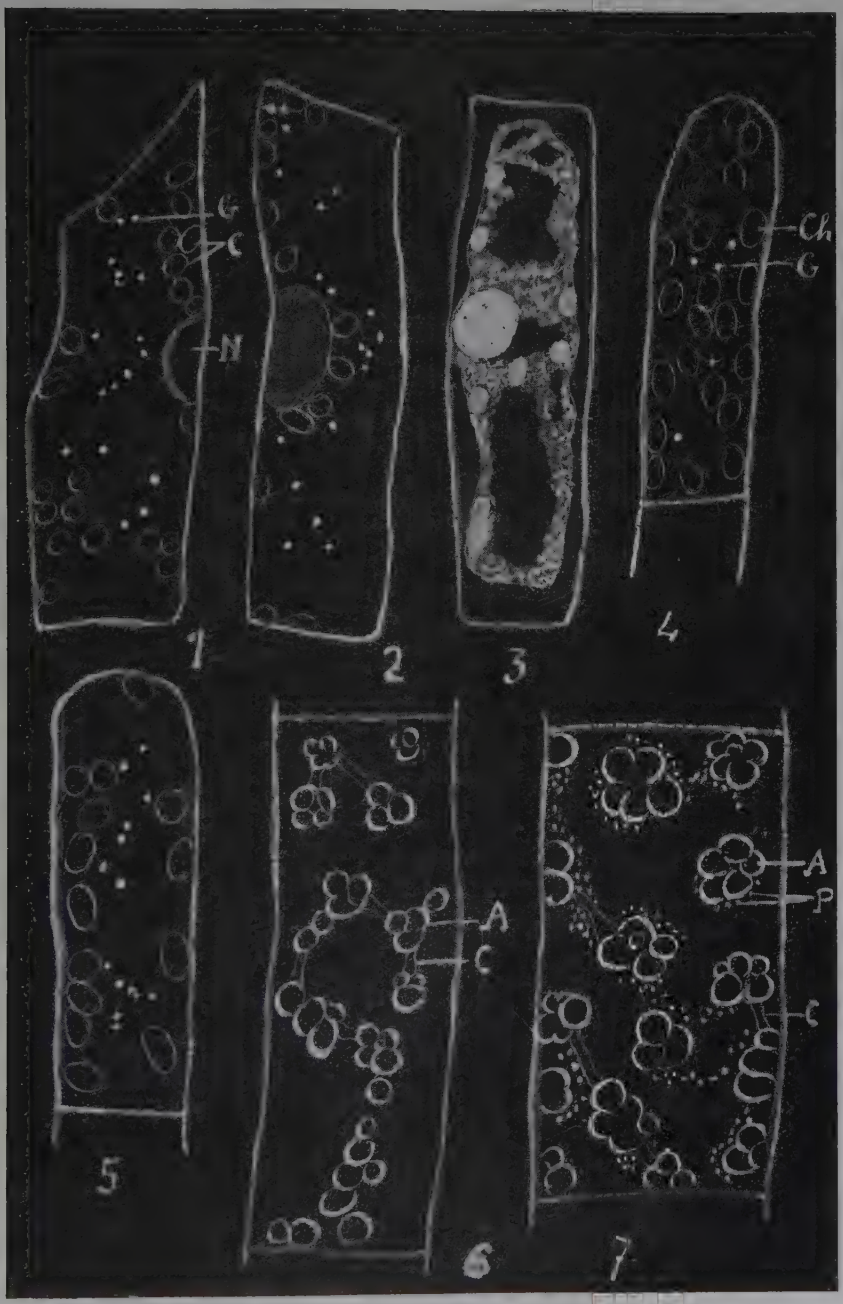
GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Tulipe et *Iris germanica*.



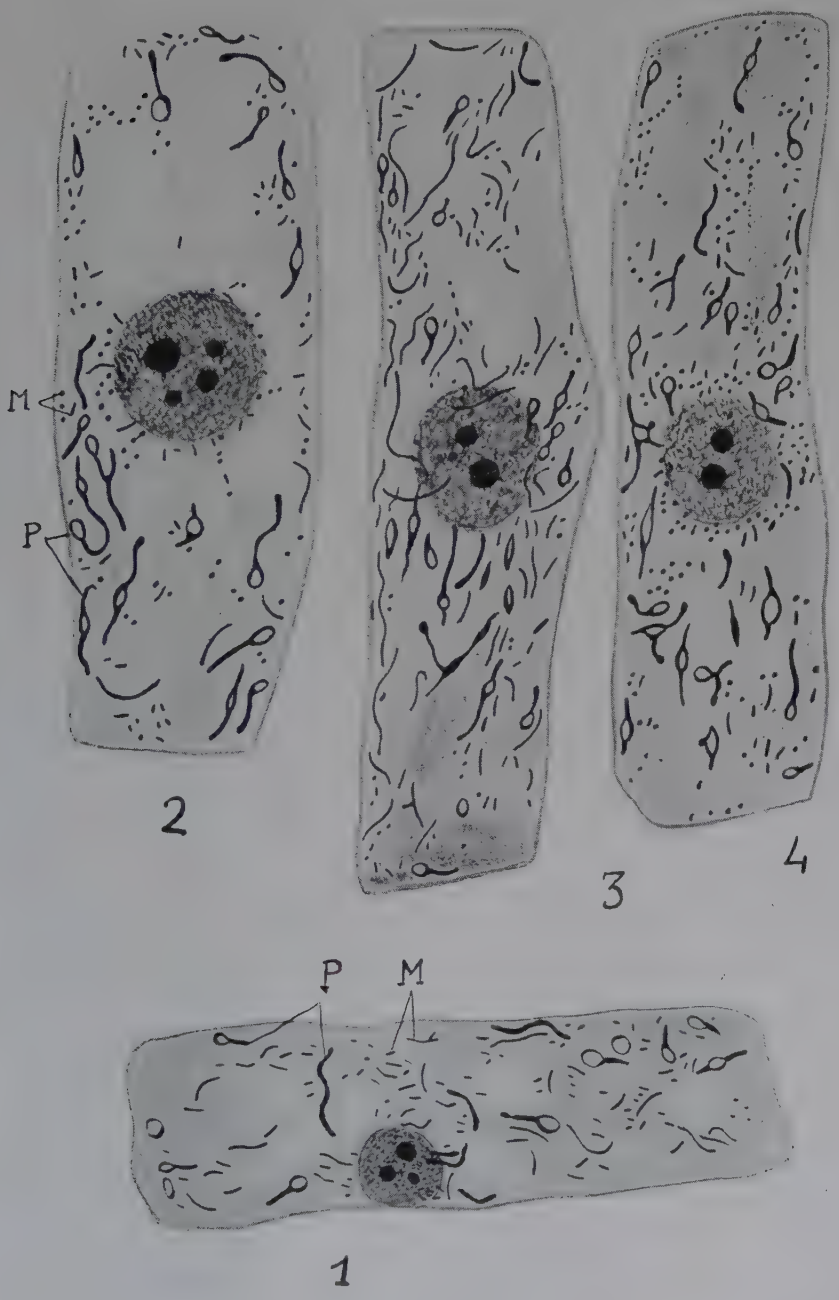
GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Iris germanica, Tulipe et *Elodea canadensis*.



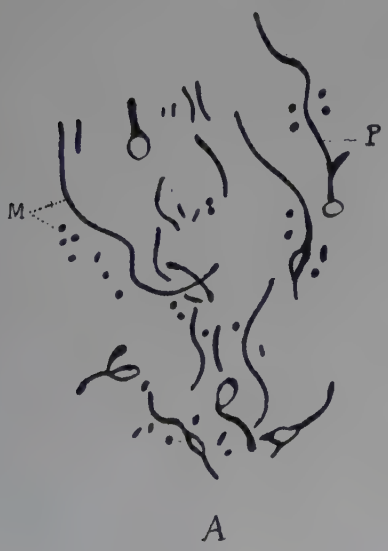
GUILLIERMOND del. BRUN sc.

Elodea canadensis, Protonéma de Mousse, *Cladophora* et *Spirogyra*.

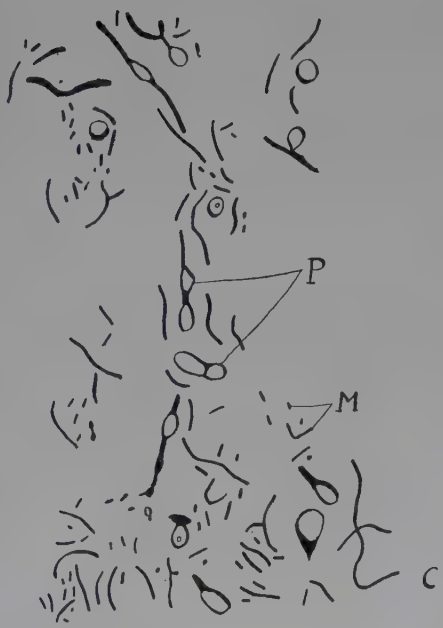


GUILLIERMOND del. BRUN sc.

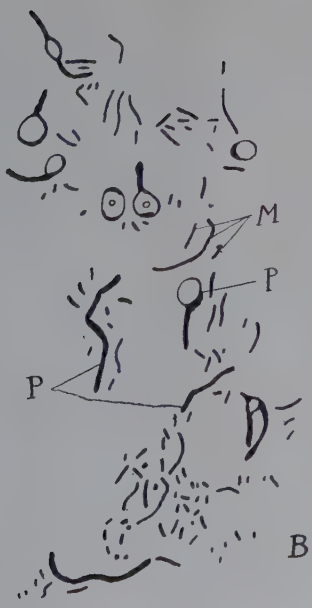
Allium Cepa.



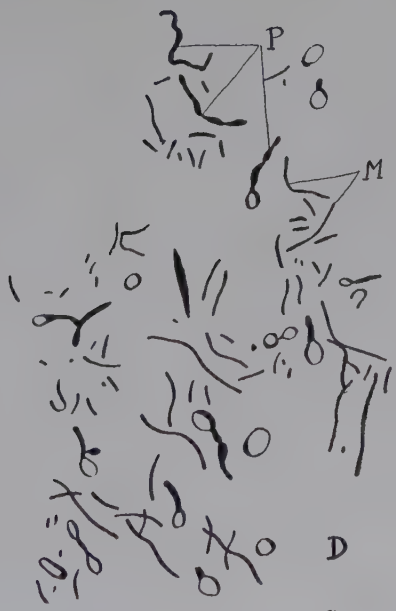
A



C



B



D

Guilliermond del. Brun sc.

Allium Cepa.

MODE DE PUBLICATION & CONDITIONS D'ABONNEMENT

La *REVUE GÉNÉRALE DE BOTANIQUE* paraît le 15 de chaque mois et chaque livraison est composée de 48 à 64 pages avec planches et figures dans le texte.

Le prix annuel d'abonnement (payable d'avance) est de :

130 fr. pour Paris, les Départements et l'Algérie.

160 fr. pour l'Étranger.

Aucune livraison n'est vendue séparément.

Adresser les demandes d'abonnement, les mandats, les annonces et tout ce qui concerne la partie commerciale à M. E. Orlhac, Librairie générale de l'Enseignement, 4, rue Dante, Paris (5e). Compte Chèques Postaux, Paris 679-10.

Envoyer les manuscrits au Directeur de la Revue, M. Molliard, Membre de l'Institut, Professeur de Physiologie Végétale à la Sorbonne, 1, rue Victor-Cousin, Paris (5e).

S'adresser, pour tout ce qui concerne la Rédaction, au Secrétaire de la Revue, M. Ad. Davy de Virville, Docteur ès Sciences, Lauréat de l'Institut, 40, rue Crossardière, Laval (Mayenne).

Les auteurs des travaux insérés dans la *Revue générale de Botanique* ont droit gratuitement à vingt-cinq exemplaires en tirage à part. Dans le cas où ils en désireraient davantage, *ils doivent en faire la demande sur leur manuscrit*, faute de quoi il ne pourrait leur être donné ultérieurement satisfaction.

Les mémoires comportant, en dehors de la composition courante adoptée pour la *Revue générale de Botanique*, des travaux spéciaux tels que tableaux, formules, planches, etc., entraînant des surcharges du prix de l'impression, sont à la charge des auteurs conformément au devis établi par le photograveur ou l'imprimeur.